F. FUHRMANN

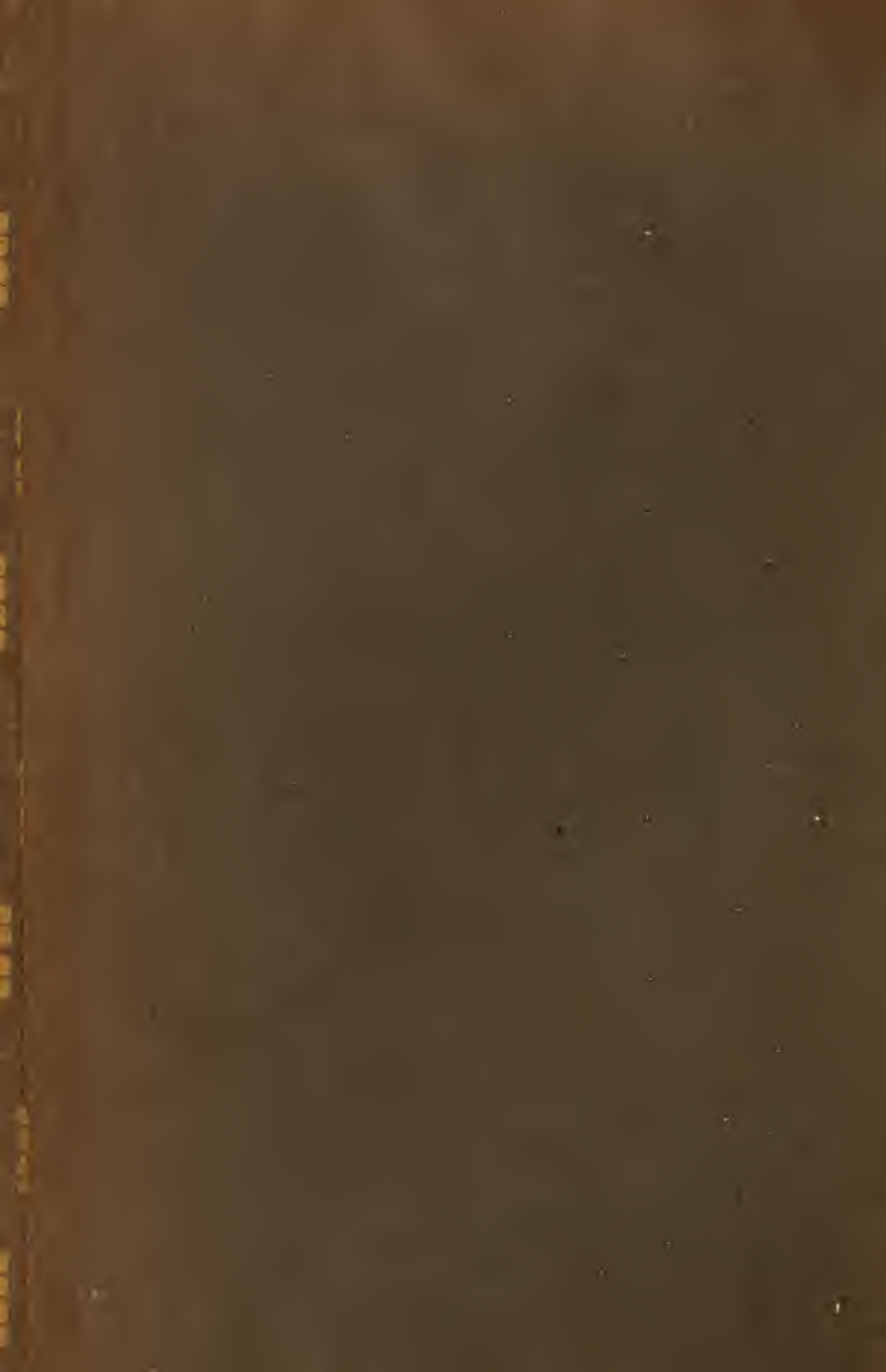
Vorlesungen über Technische Mykologie



JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER


PRO SCIENTIA
SALUTE
POPULIQUE
LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
Purchased





Vorlesungen über technische Mykologie

Von

Dr. **Franz Fuhrmann**
Dozenten der technischen Mykologie und Chemie der Nahrungs- und Genußmittel
an der technischen Hochschule
und Privatdozenten der Bakteriologie an der Universität zu Graz

Mit 140 Abbildungen im Text



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1913

Vorwort.

Die vorliegenden „Vorlesungen" sollen das umfangreiche Gebiet der technischen Mykologie keineswegs irgendwie umfassend und erschöpfend behandeln, sondern eine Einführung in dasselbe auf naturwissenschaftlicher Basis darstellen. Sie sind demnach zunächst für Anfänger und Studierende gemacht. Dadurch erklärt sich auch die etwas breitere Darstellung der allgemeinen Bakteriologie und Hefekunde, während die speziellen technischen Gärungsgebiete kürzer abgehandelt sind. Dies konnte um so mehr geschehen, als über die einzelnen Gärbetriebe ohnehin eine ausreichende Spezialliteratur vorliegt, die nur auf Grund allgemeiner Kenntnisse vom werdenden Fachmann in der Praxis voll und ganz ausgenützt werden kann. Dazu gehört aber ein vertieftes Eingehen auf die Lebenserscheinungen aller Mikroorganismen in jeder Hinsicht.

Der Fachmykologe wird in den Vorlesungen so manche Auffassung und Hypothese vermissen oder sie nur angedeutet finden. Dem Verfasser kam es aber auf eine möglichst einheitliche, durch reiches Tatsachenmaterial gestützte Behandlung des Stoffes an, die ein Eingehen auf wissenschaftliche Streitfragen nicht zweckmäßig erscheinen ließ, um den Anfänger durch vielerlei Meinungen nicht unsicher zu machen. Es soll ihm eine, wenn auch persönlich angehauchte, aber durch kritische Verarbeitung der vorliegenden tatsächlichen Befunde oder aus eigener Erfahrung gewonnene Auffassung gegeben werden. Später, als selbst auf diesen Gebieten tätigen Mykologen, wird ihm auch die Beurteilung der strittigsten Fragen leicht werden.

Von der Anführung der reichen mykologischen Spezialliteratur wurde ebenfalls Abstand genommen, da gerade der Anfänger, für den die Vorlesungen in erster Linie bestimmt sind, mit der Spezialliteratur nichts anzufangen weiß. Als unmittelbarer Arbeitsbehelf zur Literatursuche soll das Buch überhaupt nicht dienen. Dazu sind gute größere Handbücher und zusammenfassende Darstellungen vorhanden, auf die am Schlusse jeder Vorlesung verwiesen ist. In ihnen wird man reichliche und erschöpfende Literaturnachweise finden.

Eine größere Anzahl von Textfiguren soll das Erläuterte noch deutlicher machen. Um eindeutig klare Vorstellungen zu ermöglichen, wurden vielfach auch schematisierte Zeichnungen verwendet, während dort, wo es sich um eine objektive Wiedergabe handeln soll, die Photographie angewendet wurde. Der größte Teil der Textfiguren wurde vom Verfasser selbst hergestellt und eine kleinere Anzahl aus dem Handbuche der technischen Mykologie von Lafar übernommen. Sowohl für die Besorgung der fremden Figuren als auch für das Entgegenkommen in bezug auf die Ausstattung der Vorlesungen und persönlichen Wünsche des Verfassers gebührt dem Verlage Gustav Fischer in Jena der beste Dank, der an dieser Stelle abgestattet sei.

Das vorliegende Buch sei mit dem Wunsche der Öffentlichkeit übergeben, daß es sowohl dem werdenden Mykologen als auch dem Studierenden der Naturwissenschaft überhaupt eine Einführung in die Lebenserscheinungen und die Tätigkeit der Mikroorganismen geben möge, die unlöslich mit allem Werden und Vergehen auf unserer Erde verknüpft sind.

Botanisches Institut der technischen
Hochschule zu Graz, im Herbste 1912.

Franz Fuhrmann.

Inhaltsübersicht.

ERSTE VORLESUNG.

Geschichte der technischen Mykologie. Fassung der Begriffe: Bakterien, Hefe und Schimmelpilze.

So alt die praktische Anwendung und Durchführung von Gärungen der verschiedensten Art auch ist, die Geschichte der wissenschaftlichen Mykologie, soweit sie sich auf technisch wichtige Umsetzungen durch Kleinlebewesen bezieht, geht dennoch nicht sehr weit zurück. Man hatte zwar schon früh eine Reihe von mikroskopisch kleinen Lebewesen gesehen und sich an ihrem Anblicke gefreut, den Zusammenhang derselben mit so vielen technisch wichtigen Prozessen aber erst spät erkannt und noch viel später richtig beurteilt.

Tatsächlich gesehen wurden Bakterien erst zu Beginn der zweiten Hälfte des siebzehnten Jahrhunderts. Diese Entdeckung machte aber nicht ein zünftiger Gelehrter, sondern ein mit scharfer Beobachtungsgabe und großer Ausdauer ausgestatteter Mann, Antoni van Leeuwenhoek, der seines Zeichens Kaufmann und später städtischer Beamter in Delft war. Schon als Lehrling in einem Schnittwarengeschäft Amsterdams befaßte er sich in seinen Freistunden mit der mühevollen und schwierigen Herstellung kleinster Glaslinsen, die er passend in Gold- oder Silberplättchen faßte und dann zur Untersuchung der verschiedensten Substrate verwendete.

Die Besten seiner Linsen hatten eine ungefähr 160fache lineare Vergrößerung und waren leistungsfähiger als die damals schon erfundenen zusammengesetzten Mikroskope, die nur für die Beobachtung im auffallenden Lichte eingerichtet waren. Leeuwenhoek untersuchte damit zahlreiche Substrate, wie Regenwasser, Zahnschleim, Fäzes Faulflüssigkeiten u. dgl. m. und beobachtete darin kleinste „Tierchen" von verschiedener Größe, Gestalt und Beweglichkeit. Aus seinen Abbildungen, die er den Mitteilungen über seine Befunde in diesen Substraten an die Royal Society in London beifügte, geht unwiderleglich hervor, daß er tatsächlich Bakterien im heutigen Sinne des Wortes in seinen „Tierchen" vor sich hatte.

Von da ab entdeckte man in allen erdenklichen Flüssigkeiten und Körpersäften diese Kleinlebewesen und machte sie für die verschiedenen Krankheitserscheinungen verantwortlich. Es erblühte in der Medizin eine neue „Pathologia animata" und die Sucht, alles auf diese Tierchen zurück-

zuführen, brachte als Rückschlag das gänzliche Aufgeben dieser an sich gesunden Forschungsrichtung. Die Befunde von Kleinlebewesen in dieser Zeit wurden sogar ins Lächerliche gezogen und dienten der Satyre. Doch ganz eingeschlafen ist die Lehre von den kleinsten Lebewesen durchaus nicht; sie blieb erhalten und wurde wenn auch langsam, so doch ständig von Gelehrten und Dilletanten erweitert und vertieft. Man teilte diese Tierchen nach äußeren, sehr spärlichen Merkmalen in Klassen und Ordnungen ein und versuchte ein System derselben aufzustellen.

Erst der dänische Forscher Otto Friedrich Müller schuf jenes erste wirkliche System der Bakterien oder, für die damalige Zeit richtiger ausgedrückt, Kleinlebewesen oder Tierchen. Seine grundlegenden Untersuchungen haben die Lehre von diesen kleinsten „Tierchen" sehr gefördert und erweitert und eine Basis geschaffen, auf der dann im vergangenen neunzehnten Jahrhundert der mächtige Bau der Mykologie entstand, den wir heute vor uns haben, der aber noch in jeder Richtung ausgestaltungsfähig ist. Um einen Vergleich zu bringen, es steht sozusagen der Rohbau fertig vor uns, während die Feinarbeit und Kleinarbeit erst noch zu leisten ist.

Mit der Entdeckung und mit dem tieferen Eindringen in die Erscheinungen des Lebens dieser Kleinlebewesen glaubte man auch, die sog. Generatio aequivoca oder Urzeugung ohne Weiteres ihres Schleiers entkleiden zu können.

Der schon durch die einwandfreien Untersuchungen Redi's, Swammerdam's und Leeuwenhoek's zu Ungunsten der Anhänger von der Lehre von der Urzeugung bei den Insekten ausgefallene Kampf entbrannte im 18. Jahrhundert aufs Neue. Man verstand unter Urzeugung das Hervorgehen neuer Lebewesen aus unorganisierter Substanz, ohne das ihr Erscheinen auf vorher existierende Keime zurückzuführen ist. Nun entstand in solchen anscheinend lebensleeren Infusionen oder Aufgüssen innerhalb weniger Tage ein reiches Leben der verschiedensten Kleinorganismen. Was Wunder, daß man ihr Entstehen einer wunderbaren Zeugungskraft oder Vegetationskraft in diesen Aufgüssen zuschrieb und in ihnen die Rätsel der Urzeugung gelöst zu sehen glaubte. Doch da traten auch schon die Gegner dieser Anschauung und die Verfechter der Lehre von der alleinigen Entstehungsmöglichkeit von Organismen aus dem Ei mit schlagenden Beweisen für die Unrichtigkeit der Urzeugungslehre auf. Anderseits konnte Needham zeigen, daß selbst in gekochten Infusionen diese Tierchen entstehen, was doch sehr für die Urzeugung spricht. Allerdings machte Bonnet in Genf ganz richtig dagegen geltend, daß es doch denkbar und möglich ist, daß es Eier oder Tiere gibt, die die Temperatur heißer Asche aushielten und daß sie auch infolge ihrer Winzigkeit bei den kleinsten unsichtbaren Öffnungen des Flaschenverschlusses wieder in die Infusion gelangen könnten. Was Bonnet theoretisch forderte, bewies der gelehrte Abt Spallanzani durch das Experiment. Er kochte die Flaschen aus und füllte die ebenfalls gekochten Infusionen siedendheiß in die Flaschen ein, worauf er sie versiegelte. Und siehe in den meisten Flaschen blieben dieselben frei von lebenden Wesen! Daraus schloß Spallanzani, daß sich in den Infusionen nur dann Tierchen entwickeln können, wenn unerhitzte Luft zu ihnen Zutritt hat, da sie nur dann lebende Eier enthalten könne, welche aus ihr in den Aufguß gelangen. Diese Tierchen entstehen daher nicht durch Urzeugung, sondern aus

Eiern. Dieses Experiment ist auch die Grundlage unserer heutigen Sterilisierungsmethoden und der Konserventechnik, die insbesondere der Franzose François Appert begründete.

Die Anhänger der Urzeugung ergaben sich noch lange nicht, sondern erklärten, durch das Sieden erleiden die Infusionen Veränderungen, wodurch ihnen jene Qualitäten verloren gingen, die die Urzeugung auslösen. Erst zahlreiche Experimente Schulze's (1836), Schwann's (1837), Schröder's und Dusch's (1854), Hoffmann's (1860) und Chevreul und Pasteur's (1861) konnten dartun, daß von einer Urzeugung in diesen Infusionen keine Rede sein kann. Für uns sind diese Versuche auch deshalb besonders bemerkenswert, weil sie wieder die Grundlagen für die heute geübte Praxis der Keimfreihaltung von Substraten abgeben. Deswegen seien sie kurz erörtert.

Franz Schulze füllte eine Glasflasche etwa zur Hälfte mit Wasser, dem verschiedene pflanzliche und tierische Stoffe beigemengt waren, verschloß dieselbe mit einem doppelt durchbohrten Kork, durch den je eine rechtwinkelig gebogene Glasröhre führte. Nun erhitzte er den Flascheninhalt bis zur kräftigen Dampfentwicklung, so daß aus beiden Röhren der Dampf ausströmte. Nunmehr setzte er an beide Rohrenden Kugelapparate, von denen der eine Kalilauge und der andere konzentrierte Schwefelsäure enthielt, worauf er täglich einigemale Luft durch die Flasche saugte. Trotzdem er diese Durchlüftung durch mehr als 2 Monate hindurch wiederholte, blieb der Inhalt frei von lebenden Organismen. Erst kurz nach dem Zutritt von Luft, die die Vorlagen nicht passierte, siedelten sich massenhaft Mikroorganismen an. Damit war auch dargetan, daß zum Auftreten der Lebewesen in den Infusionen eine Infektion derselben durch in der Luft enthaltene Keime notwendig ist. Das Gleiche beweisen die Versuche Schwann's, bei denen die zu den Infusionen gelangende Luft vorher durch geschmolzene Metalle trat oder geglüht wurde, wodurch ebenfalls die in ihr immer vorkommenden Mikroorganismen vernichtet werden, weshalb auch in diesem Falle die Infusionen keimfrei blieben.

Schröder und Dusch vermieden jeden thermischen oder chemischen Eingriff zur Entkeimung der Luft, sondern leiteten dieselbe einfach durch eine dickere Lage von Watte, die ebenfalls die Luftkeime quantitativ zurückhält und so eine Infektion der keimfreien Infusionen durch letztere sicher ausschließt. In der Praxis gebrauchen wir heute noch in den meisten Fällen trockene Wattelagen als sichere Bakterienfilter und verschließen damit die Kulturgefäße bei den meisten Laboratoriumsversuchen.

Aber auch diese Filter können wir bei der Keimfreihaltung von keimfreien Infusen entbehren, wie die Versuche von Hoffmann einerseits und Chevreul und Pasteur andererseits zeigen. Diese Forscher benützen unabhängig voneinander zur Aufbewahrung der Infusionen Kochkolben, deren Hals in ein S-förmig gebogenes Rohr ausgezogen war. Wurden darin die Infusionen gekocht und dann einfach offen stehen gelassen, siedelten sich keine Mikroorganismen an, da die eintretende Luft durch die S-förmige Glasröhre geht und hier beim Anstoßen an die Wandungen ihre Kleinlebewesen oder deren Sporen absetzt. Dabei wirkt im aufsteigenden Luftstrom auch die Schwerkraft mit.

Diese Versuche beweisen alle zur Evidenz, daß in keimfreien zersetzungsfähigen Infusionen allerdings eine Urzeugung von Mikroorganismen ausgeschlossen erscheint und daß die sich beim offenen Stehen derselben

entwickelnde Mikrobenflora jedenfalls auf Infektionen aus der Luft zurückzuführen ist. Dies gilt natürlich nur für diese Versuchsanordnungen. Nach dem heutigen Stande der Naturwissenschaft sind wir aber keineswegs berechtigt, jede Art von Urzeugung a priori abzulehnen. Wir sind vielmehr gezwungen, dieselbe für gewisse Entwicklungszeiten der Erde zu postulieren. Ob dieselbe bei den uns bekannt gewordenen Mikroorganismen einsetzt oder bei anderen Organismen noch einfacheren Baues, wissen wir nicht.

Mit den oben genannten Versuchen zur Widerlegung der Urzeugungslehre bewegen wir uns schon in jenen Zeiten, die für die Ausgestaltung der Mykologie grundlegend waren und in der sich nach mancherlei Irrfahrten die jetzige Anschauung über die Mikroorganismen allmählich herausschälte. Das Studium der äußeren Erscheinungsform derselben führte in der Folge zum tieferen Eingehen in die Lebensbedingungen dieser Organismen und zugleich zur Erkenntnis der Wirkungen und Tätigkeiten derselben in der Natur. Neben der medizinischen Bakteriologie entwickelte sich die technische Mykologie, deren Grenzen naturgemäß weiter gesteckt sind und die sich mit weit mehr Organismen zu beschäftigen hat als die erstere.

Die technische Mykologie hat sich mit allen jenen Zersetzungsvorgängen und Gärungen zu befassen, die durch Pilze hervorgerufen werden und vornehmlich unbelebte Stoffe betreffen. Ihr obliegt es, die Erreger dieser Umsetzungen genauestens zu erforschen und jene Maßnahmen herauszufinden, durch die eine Beeinflussung dieser Vorgänge in jeder gewünschten Richtung ermöglicht wird. Dazu gehört natürlich auch die Fernhaltung und Ausschließung jener Pilze, die ein Verderben der beabsichtigten Umsetzungsprodukte herbeizuführen imstande sind.

Der Begriff Gärung hat im Laufe der Zeiten manche Wandlungen durchgemacht. Ursprünglich betraf er jene Vorgänge, durch die spontan eine Verbesserung und Fertigstellung, Garmachung von Nahrungs- und Genußmitteln erreicht wird. Ein solcher Vorgang ist beispielsweise die Umwandlung des Mostes in den haltbaren Wein. In der Gelehrtensprache bürgerte sich dafür der Name Fermentatio ein, der bei den Alchimisten eine sehr weite Fassung bekam und schließlich sogar mit der für die Verdauung angewendeten Bezeichnung Digestio zusammengeworfen wurde, so daß damals in dieser Hinsicht große Unklarheit herrschte. Die Körper nun, die Fermentationen verursachten, nannte man Fermente und verstand darunter jegliche Stoffe, die überhaupt eine chemische Reaktion auszulösen vermochten. Allgemein herrschte die Anschauung, daß die Gärungen rein chemische Vorgänge toter Materie seien, die mit Lebewesen nichts zu tun haben.

Mit dem tieferen Studium der Kleinlebewesen und mit der Entdeckung, daß dieselben ursächlich bei der Gärung und Fäulnis beteiligt sind, rang sich eine neue Anschauung über diese Vorgänge durch. Die Begründer dieser vitalistischen Auffassung der Gärungsvorgänge sind Cagniard de Latour, Schwann und Kützing, die unabhängig voneinander zu prinzipiell gleichen Ergebnissen zu annähernd gleicher Zeit gelangten.

Cagniard de Latour unterzog auch die Bierhefe, eigentlich besser gesagt, den sich bei der Gärung des Bieres bildenden Absatz, einer eingehenden mikroskopischen Untersuchung und berichtete darüber in den

Jahren 1836 und 1837 der Pariser Akademie in einer kurzen Mitteilung, die in folgenden Sätzen[1]) gipfelte:

„1. Die Bierhefe ist aus kleinen Kügelchen zusammengesetzt, welche die Fähigkeit haben, sich zu vermehren, die also organisierte Wesen sind und nicht eine tote chemische Substanz, so wie man bisher angenommen hat.

2. Diese Körperchen scheinen dem Pflanzenreiche anzugehören und sich auf zweierlei Weise fortzupflanzen.

3. Sie scheinen auf eine Zuckerlösung nur so lange zu wirken, als sie lebendig sind, woraus man mit vieler Wahrscheinlichkeit schließen kann, daß durch deren Lebenstätigkeit die Kohlensäure entbunden und die Zuckerlösung in eine alkoholische Flüssigkeit umgewandelt wird."

Mit dem letzten Satz ist die Ansicht Latour's über die Gärung als einen vitalen Vorgang niedergelegt. Zu einem im Prinzipe gleichen Schluß über die Erreger der Bier- und Weingärung und sie selbst gelangte auch Schwann unabhängig um dieselbe Zeit. Er charakterisiert die Hefe ebenfalls wegen ihrer Vermehrung als pflanzlichen Organismus und stellt ihn in die Reihe der Pilze. Außerdem beschreibt Schwann sehr treffend die Ernährung dieser Pilze und macht sich darüber eine klare Vorstellung, indem er unter anderen in der Weingärung eine Zersetzung sieht, bei der der Zuckerpilz dem Zucker und einem stickstoffhaltigen Körper seine Nahrung entzieht, während aus dem Rest dieser Stoffe Alkohol gebildet wird. Er ist es auch, der wohl als Erster verschiedene Stoffe und Hitze näher auf ihre die alkoholische Gärung hemmende Wirkung untersuchte. So fand er, daß Erhitzung diese Lebewesen zerstört und gleichzeitig die Gärung aufhebt. Die gleiche Wirkung erkannte er am arseniksaurem Kali und anderen Giften, die wir gemeiniglich als Desinfektionsmittel heute ansprechen. Mit ihnen arbeiten wir heute noch und auf ihre Kenntnis stützt sich die gesamte Lehre der Antisepsis, worunter wir die Vernichtung der Mikroorganismen durch Gifte verstehen. Schwann ist sonach auch der eigentliche Begründer der für die technische Mykologie nicht minder als für die medizinische Bakteriologie wichtigen Desinfektionslehre.

Um die gleiche Zeit befaßte sich auch der deutsche Algenforscher Kützing mit den Erregern der alkoholischen Gärung und zog auch andere technisch wichtige Vorgänge, die auf Mikroorganismen zurückgehen, in den Kreis seiner Betrachtungen, wie namentlich die Essiggärung. Er hat als Erster auch die pflanzliche Natur der Essigmutter und deren unbedingte Notwendigkeit zur Bildung von Essigsäure bei dieser Gärung richtig erkannt. Auch er spricht sich für die Auffassung, diese Vorgänge auf lebende Pilze oder Algen zurückzuführen, aus und ist somit ein Mitbegründer der vitalistischen Gärungstheorie. Diese Auffassung der nicht rein chemischen Natur der Gärungen ist in seinen eigenen Berichten klar und deutlich festgelegt, indem er schreibt:

„Sicher hängt aber der ganze Prozeß bei der geistigen Gärung von der Bildung der Hefe und bei der sauren von der Bildung der Essigmutter ab." „Insofern nun Gärung gleichbedeutend ist mit einer gegenseitigen Wirkung sich erzeugender, organischer und unorganischer Gebilde auf die Bestandteile einer gegebenen Flüssigkeit, die in bezug auf das organische Produkt als Nahrungsmittel betrachtet werden kann, so ist sie

1) Zitiert nach Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 1, S. 13ff.

auch notwendig gleichbedeutend mit jedem organischen Lebensprozeß. Daher organisches Leben = Gärung. Jene Prozesse dagegen, welche die Essigbildung aus Alkohol mittels Platinmohr, oder auf andere, diesem ähnliche Weise einleiten, können nicht mit der Gärung verglichen werden, sie sind rein chemische Prozesse, während die Gärung ein organisch-chemischer Prozeß, wie der Lebensprozeß eines jeden organischen Körpers ist."

Die Ansicht aller drei, unabhängig voneinander arbeitenden Forscher, ist im Grunde die gleiche: Gärung ist ein Lebensprozeß, bzw. wird nur durch die Lebenstätigkeit oder durch das Leben von Mikroorganismen ausgelöst und durchgeführt. Diese mikroskopisch-biologischen Untersuchungen der drei genannten Forscher sind für die vitalistische Auffassung der Gärung allerdings grundlegend, während die experimentelle Begründung derselben erst durch Pasteur geschah, wozu auch die scharfe Stellungnahme Liebig's gegen diese nichtchemische Gärungstheorie wesentlich beitrug.

Pasteur veröffentlichte seine experimentellen Studien über Gärungen und ihre Erreger in den Jahren 1857—1876 in einer Reihe von Abhandlungen. Ihm verdanken wir auch eine neue Untersuchungstechnik des Lebens der pilzlichen Mikroorganismen, die in der Anwendung von Most u. dgl. als besonders taugliche Nährsubstrate für die Gärungspilze und in den ersten Versuchen und Vorschlägen zur Erreichung von Reinkulturen derselben durch entsprechende Verdünnungen gipfelte. Außerdem verdanken wir Pasteur die erste Beobachtung, daß es auch ein Leben ohne Luft gäbe. Allerdings kann natürlich der vorerst ganz allgemein aufgestellte Satz: Gärung ist Leben ohne Luft, nicht allgemeine Berechtigung beanspruchen.

Es wurde aber eine neue Erscheinung des Lebens entdeckt und der Grund zur Lehre von Anaërobiose gelegt, die gerade für die Gärungserscheinungen bei einer Reihe von Organismen höchst bedeutungsvoll ist.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung der Gärungstheorie sehen wir dann eine Auffassung dieser Vorgänge bei Nägeli, die einen vermittelnden Standpunkt zwischen derjenigen Liebig's und derjenigen Pasteur's einnimmt. Nägeli meint, daß die bei der Gärung auftretenden Umsetzungen allerdings die lebenden Gärungserreger verursachen würden, daß sich die Vorgänge der Gärung aber nicht in der Zelle selbst abspielen, sondern außerhalb derselben, hervorgerufen durch Kräfte, die aber von der Zelle ausgehen. Im Jahre 1879 faßte Nägeli seine molekularphysikalische Gärungstheorie dahin zusammen, daß die Gärung in einer Übertragung von Bewegungszuständen von Molekülen, Atomen und Atomgruppen des Protoplasmas auf außerhalb der Zelle befindliche Verbindungen bestünde, das Gleichgewicht dadurch gestört würde und sie selbst dadurch zum Zerfalle kämen.

In der Zeit des Kampfes um die Gärungstheorien lernte man aber auch Erscheinungen kennen, die die heutige Enzymlehre begründeten. Aus Malz gewann man Körper, die imstande waren, Stärke zu verzuckern. Aus der bitteren Mandel erhielt man Stoffe, die Blausäure aus Amygdalin abspalteten; man untersuchte die verdauende Tätigkeit des Magens und entdeckte im Magensaft einen Körper, das Pepsin, das eiweißspaltende Eigenschaften besitzt.

Alle diese Stoffe erwiesen sich insofern gleich, als sie durch Hitze unwirksam werden und zur Äußerung großer Wirkungen nur in ver-

schwindend kleiner Menge vorhanden sein müssen. Sie glichen in dieser Hinsicht jenen Stoffen, die durch Kontakt oder Katalyse wirken. Man nannte sie ganz allgemein Fermente und übertrug diesen Namen mit der Nebenbezeichnung „geformt“ auch auf die Gärungserreger, da die Wirkung letzterer den Fermenten sehr ähnlich war.

Wir finden von da ab die Bezeichnung „geformte Fermente“ für Gärungserreger, während man die von der Zelle losgelöst wirkenden, also selbst leblosen Substanzen, die die oben genannten Umsetzungen hervorrufen, als Fermente schlechthin bezeichnete.

In der Folge erkannte man noch zahlreiche andere Vorgänge, die auf Fermente zurückgehen und lernte auch die alkoholische Gärung als solchen Vorgang kennen, nachdem Buchner den gärkräftigen Hefepreßsaft herstellte und damit bewies, daß auch diese Umsetzung nur insofern als durch lebende Zellen hervorgerufen angesehen werden kann, als das lebende Plasma den gärungserregenden Körper, die Zymase oder Alkoholase, erzeugt, die dann auch fernerhin ohne Zutun der lebenden Zelle zu wirken vermag.

Einen weiteren Fortschritt in der technischen Mykologie bedeutet die Einführung und die Ausbildung der Reinzuchtmethoden, die auf Pasteur zurückgehen und ihre hohe Vervollkommnung besonders durch Koch für die Bakterien und Hansen und Lindner für die Hefen erreichten.

Schon die mit großer Wahrscheinlichkeit erhaltenen Reinzuchten Pasteurs gestatteten eine genaue Beobachtung der Ernährungsbedingungen der einzelnen Mikroorganismenarten und ihrer Wirkungen auf die umgebenden Substrate. Dadurch bekam die schon von Kützing begründete Lehre von der Spezifizität der Gärungserreger festen Boden.

Es hat sich in der Folge gezeigt, daß die einzelnen Gärungen und Zersetzungen durch eine Reihe von bestimmten Mikroorganismen ausgelöst werden, die unter den gleichen Verhältnissen immer die nämlichen Gärprodukte liefern. Sie wirken also spezifisch auf die Stoffe ein. Wenn man auch anfangs meinte, daß eine bestimmte Gärung immer nur von einem bestimmten Organismus durchgeführt werde, so wurde diese Ansicht doch in der Folge mit Recht dahin erweitert, daß für die einzelnen Gärungen Gruppen ähnlicher Mikroorganismen, Hefen oder Bakterien, in Frage kommen, die sich mitunter morphologisch beträchtlich unterscheiden und auch andere Nebenprodukte liefern, wenn auch das Gärhauptprodukt das Gleiche ist. Schon im Jahre 1878 hat Emil Christian Hansen, der Begründer der modernen Mykologie, festgestellt, daß die Essiggärung mindestens zwei verschiedene Essigsäurebakterien erregen. Heute kennen wir schon zahlreiche Bakterienarten die diese Gärung verursachen. Das gleiche gilt für die alkoholische Gärung, die durch außerordentlich viele Hefearten verursacht wird, und alle anderen besser untersuchten Umsetzungen.

Man versuchte auch schon sehr früh, die gesehenen Mikroorganismen nach ihrer äußeren Form und einigen biologischen Eigentümlichkeiten systematisch zu ordnen.

Es ist unnötig auf die verschiedenen Bakteriensysteme, die nur mehr historischen Wert besitzen, hier einzugehen. Es sei nur nochmals darauf hingewiesen, daß man die Pflanzennatur der pilzlichen Mikroorganismen

spät erkannte. Die Bakterien faßte erst Perty im Jahre 1852 als Phytozoidia, also Pflanzentiere, zusammen.

Die Grundlage der vorläufig auch jetzt noch geltenden Bakteriensysteme gab Ferdinand Cohn in den Jahren 1872—1875. Er gebrauchte auch als erster den Namen „Bakterien" für jene große Gruppe von Mikroorganismen, die wir auch heute noch darunter verstehen. Er stellte ein System der Bakterien auf, das dieselben sehr richtig den Spaltalgen sehr nahe brachte und sie mit letzteren zur Gruppe der Schyzophytae vereinigte, die zwei große Tribus mit vielen Ordnungen umfaßte. Dabei dienten in erster Linie äußere Merkmale zur Unterscheidung und Aufstellung derselben. Wenn es auch in seiner damaligen Fassung heute keine Geltung mehr besitzt, so sind in ihm doch entgültig die Bakterien zu den Pflanzen gestellt. Es sei hier in seiner Fassung kurz wiedergegeben[1], soweit es sich auf Bakterien im heutigen Sinne bezieht.

I. Tribus: Gloegenae.

Zellen frei oder durch Interzellularsubstanz zu Schleimfamilien vereinigt.

A. Zellen frei oder binär oder quarternär verbunden.
- Zellen kugelig . . . . Chroococcus.
- „ zylindrisch . . . . Synechococcus.

B. Zellen im Ruhezustand zu amorphen Schleimfamilien vereinigt.
- a) Die Zellenmembranen mit der Interzellularsubstanz zusammenfließend.
  - 1. Zellen nicht phykochromhaltig,
    - Zellen kugelig . . . . Micrococcus.
    - „ zylindrisch . . . . Bacterium.
  - 2. Zellen phykochromhaltig.
- b) Interzellularsubstanz aus ineinandergeschachtelten Zellhäuten gebildet.

C. Zellen zu begrenzten Schleimfamilien vereinigt.
- c) Zellfamilien einschichtig, in eine Zellfläche gelagert.
  - 1. Zellen quarternär geordnet, in einer Ebene . . . Merismopedia.
  - 2. Zellen ungeordnet, in einer Kugelfläche gelagert.
- d) Zellfamilien mehrschichtig, zu sphäroidischen Zellkörpern vereinigt.
  - 1. Zellenzahl bestimmt, kugelig . . . . Sarcina.
  - 2. Zellenzahl unbestimmt, sehr klein, farblos . . . Ascococcus.

II. Tribus: Nematogenae.

A. Zellfäden stets unverzweigt.
- a) Zellfäden frei oder verfilzt.
  - 1. Fäden zylindrisch, farblos, undeutlich gegliedert.
    - Fäden sehr dünn, kurz . . . . Bacillus.
    - „ „ „ lang . . . . Leptothrix.
    - „ stärker, lang . . . . Beggiatoa.
  - 2. Fäden zylindrisch, phykochromhaltig.
  - 3. „ zylindrisch, gegliedert, Gonidien bildend, farblos . . . . Crenothrix.
  - 4. „ schraubenförmig ohne Phykochrom.
    - Fäden kurz, schwachwellig . . . . Vibrio.
    - „ „ spiralig, starr . . . . Spirillum.
    - „ lang, spiralig, flexil . . . . Spirochaete.
  - 5. Fäden rosenkranzförmig, ohne Phykochrom . . . Micrococcus.
- b) Zellen durch Interzellularsubstanz zu Schleimfamilien vereinigt.
  - 1. Fäden zylindrisch, farblos . . . . Myconostoc.

B. Zellfäden durch falsche Astbildung verzweigt.
- 1. Fäden zylindrisch, farblos . . . . Cladothrix.

1) Zum Teil nach Migula, Lafar's Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 1, S. 137, zitiert.

Hier sind nur jene Untergruppen aufgenommen, die sich auf Bakterien im heutigen Sinne des Wortes beziehen, während die zahlreichen anderen wegblieben.

Das Cohn'sche System fußt auf der Konstanz der Bakterienarten, die aber gerade in jener Zeit sehr angezweifelt wurde, da man einem ständigen Übergang der Arten ineinander und einer weitgehenden Pleomorphie der einzelnen Bakterien das Wort redete. In diesem Geist ist auch das nun folgende System Zopf's gehalten, wenn auch darin eine Konstanz der Arten gewahrt erscheint.

Einen großen Fortschritt in der systematischen Ordnung der Bakterien brachten die Systeme von van Tieghem, de Bary und Hueppe. Ihnen diente die Fruktifikation als Grundlage für die Aufstellung der Arten und Gattungen, die auch jetzt bis zu einem gewissen Grade noch in der Bakteriensystematik Verwendung findet. Damit bewegen wir uns schon in der Neuzeit der Bakteriensystematik, die wir später ohnehin genauestens kennen lernen werden.

Schon nach dieser äußerst kurz gefaßten geschichtlichen Entwicklung der Lehre von den Bakterien können wir den Begriff „Bakterien" folgendermaßen definieren: Wir verstehen unter Bakterien phykochromfreie einzellige, sehr kleine Spaltpflanzen, die sich also durch Spaltung vermehren; viele unter ihnen sind zur Ausbildung von endogenen Sporen befähigt und haben demnach mehr oder weniger widerstandsfähige Dauerformen. Die beweglichen Formen tragen Geißeln als Bewegungsorganellen oder bewegen sich in wenigen Fällen ohne solche nach Art der Oszillarien.

Über die Geschichte des Systems der Hefe läßt sich nicht sehr viel berichten, da erst sehr spät ihre Zugehörigkeit zu den Pilzen erkannt wurde. Gerade sie weist aber viele Formen auf, die die systematische Bearbeitung sehr erschwerten, da dieselben bei ein und derselben Art vielfach wiederkehren und sogar zur Annahme führten, daß die Hefe nur einen Entwicklungszustand eines höheren Pilzes vorstellt.

Im Jahre 1870 stellte Rees den Zuckerpilz (Saccharomyces), wie derselbe schon von Meyen genannt worden war, zu den Askomyzeten oder Schlauchpilzen, da zur Zeit der Sporenbildung die vegetative Zelle in einen Askus umgewandelt wird, in dem eben die Sporen erzeugt werden.

Erst mit Emil Christian Hansen setzte in den Jahren 1881 bis 1883 eine neue Ära der Hefeforschung ein, die die grundlegenden Tatsachen zum heutigen System der Hefen schuf. Dies wurde wieder nur möglich durch Hansen's zuverlässiges Reinzuchtsystem, das die Zucht von einer Zelle weg ermöglichte und so die Beobachtung des gesamten Entwicklungsganges einer sichergestellten Art zuließ. So konnte Hansen das große Genus Saccharomyces in Arten, Rassen und Varietäten aufteilen. Hansen verstand unter Saccharomyces nur diejenigen Sproßpilze, die die Fähigkeit zur Sporenbildung besitzen. Sproßpilze sind wieder nur solche Pilze, deren Zellen sich durch Treiben von Sprossen vermehren, mit anderen Worten, die Vermehrung geschieht bei ihnen regelmäßig und immer durch Sprossung, wobei die Tochterzellen im Verbande bleiben können. Damit sagen wir schon, daß es sich um einzellige Pilze, wie bei den Bakterien, handelt. Die Eigenschaft der Sproßbildung finden wir noch bei einer Reihe von Schimmelpilzen und anderen höheren

Pilzen, nur ist sie hier gewiß nicht die regelmäßige Vermehrungsform, sondern tritt gelegentlich unter besonderen Bedingungen auf.

Hansen faßte dann die saccharomycesähnlichen Sproßpilze, die ebenfalls Alkohol aus Zucker bilden, unter der Bezeichnung Torula zusammen. Dieselben entbehren also der Sporenbildung.

Wir können vorläufig den Begriff **Hefe** so fassen, daß wir darunter jene einzelligen Eumyzeten verstehen wollen, welche imstande sind, die alkoholische Gärung zu erregen. Dazu gehören auch einzellige Eumyzeten, die sich nicht durch Sprossung vermehren, sondern durch Spaltung; dieselben bezeichnet man als Schyzosaccharomyzeten oder auch als Spalthefen. Weiter sind hierher zu rechnen die meisten Saccharomyzeten mit Ausnahme jener wenigen Arten, die keine alkoholische Gärung hervorrufen und endlich die saccharomyzesähnlichen Sproßpilze ohne Sporenbildung, die Torulaarten.

In der technischen Mykologie spielen nun eine Reihe höherer Pilze eine mehr oder minder wichtige Rolle, die man trivial als **Schimmelpilze** bezeichnen kann. Unter ihnen gibt es einfachere, wie Dematium, Monilia usw. und besonders hoch organisierte echte Pilze, die aus mehreren Zellen aufgebaut sind und ein weit verzweigtes Hyphensystem zur Nahrungsaufnahme und besondere Träger für die Fruchtkörper aufweisen. Für die Gärungsbetriebe sind Penicillium-, Mucor- und Aspergillus-Arten vornehmlich von Bedeutung.

Literatur zur Vorlesung I.

Löffler, Fr., Vorlesungen über die geschichtliche Entwicklung der Lehre von den Bakterien. Leipzig 1887, dort reiche Literatur.

Kützing, F., Journal für praktische Chemie, Bd. 11, S. 385. 1837.

Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 1, S. 1, dort ebenfalls eingehende Literaturangaben.

Perty, Zur Kenntnis kleinster Lebensformen, 1852.

Cohn, F., Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. 1, 1872, 1875.

Migula, W., Einteilung und Stellung der Bakterien im System. Lafar's Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 1, S. 128.

ZWEITE VORLESUNG.

Morphologie der vegetativen Bakterienzelle.

Trotzdem die Bakterien sowohl in der freien Natur als auch in der Laboratoriumskultur dem Untersucher in mannigfacher Gestalt entgegentreten, lassen sich ihre Formen auf einige wenige Grundtypen zurückführen, die Kugel, den Zylinder und endlich die Schraube.

Wir finden Bakterien, die unter normalen äußeren Bedingungen stets Kugelgestalt besitzen und die deshalb als

Kugelbakterien (Kokken)

bezeichnet werden. Bei ihnen kann natürlich von einer Mannigfaltigkeit oder Veränderung der Gestalt nicht gesprochen werden, wenn man davon absieht, daß bei allen Vertretern dieser Bakteriengruppe unmittelbar vor und ganz besonders nach der Teilung eine Abweichung von der Kugelform festzustellen ist. Die Tochterzellen nehmen aber, sobald sie frei werden, in kürzester Zeit die Kugelgestalt wieder rein an. Man ist überhaupt nur dann berechtigt, eine Bakterienart in die Gruppe der Kugelbakterien einzureihen, wenn sie bei guter Vermehrung, also in allen ausnützbaren Nährsubstraten kurz nach der Teilung die Kugelform annimmt, sofern die Teilungsprodukte frei werden und als einzelne Zellen weitervegetieren. Treten im Verlaufe der Entwicklung einer Kugelbakterienkultur gewisse, später noch genau zu beschreibende Wuchsverbände auf, in denen die Zellen nach der Teilung festgehalten werden, dann können Abflachungen der Kugelgestalt an den Berührungsstellen auftreten, die die reine Kugelform beeinträchtigen. Ein gutes Beispiel für diese Erscheinung geben uns diejenigen Kugelbakterienarten, welche die Neigung besitzen, nach der Teilung noch längere Zeit zu zweit vereint zu bleiben, zusammengehalten von einer gemeinsamen Kapsel. Solche Kugelbakterien bezeichnet man auch als Doppelkugelbakterien oder Diplokokken.

Nebenstehende Figur 1 zeigt schematisch gezeichnet in *a* eine einzelne Kugelbakterie und in *b* dieselbe vor der Teilung, nicht mehr rein kugelförmig, wie an dem punktiert eingezeichneten Kreis zu bemerken ist, dessen Umriß sich mit demjenigen der Zelle nicht mehr deckt. In *c* endlich sieht man die beiden Tochterzellen, die auch in kurzer Zeit nach der Teilung frei werden und die Kugelgestalt wieder annehmen, wie es *d* zeigt. In *e* und *f* dieser Figur sind Diplokokken wiedergegeben,

deren Teilungsprodukte die Abflachung dort aufweisen, wo die Teilungsebene eingeschnitten hatte. *c* zeigt den Dipplokokkus in der durch die gestrichelte Linie angedeuteten Kapsel. In *f* hat sich der punktierten Linie entsprechend die Teilungswand auszubilden begonnen, wodurch die Tochterzellen 1 und 2 entstehen. *g* zeigt uns beide Teilungsproduke, in der gemeinsamen Kapsel liegend, noch leicht an den Berührungsstellen

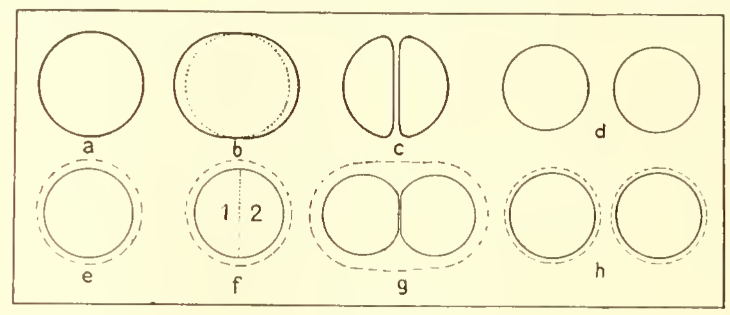


Fig. 1.

abgeplattet. Erst wenn sie später frei werden, zeigen sie wieder die Kugelgestalt, wie aus *h* ersichtlich ist.

Mannigfach ist die Form derjenigen Bakterienarten, die einen zylindrischen Zelleib besitzen. Man bezeichnet sie kurzweg als

Stäbchenbakterien.

Bei ihnen ist eine größere Abwechslung in der äußeren Gestalt schon dadurch bedingt, daß bei den verschiedenen Arten die Dicke und Länge sehr verschieden ist. Wir finden Arten, deren Vertreter sehr dick und kurz sind, so daß die einzelnen Zellen gedrungen und plump aussehen. Andererseits gibt es Stäbchenbakterien von zartem und schlankem Aussehen. Diese beiden Extreme sind von allen erdenklichen Übergangsformen verbunden. Die Formverschiedenheiten werden dann noch dadurch bedeutend bereichert, daß die Zellenden sehr verschieden gestaltet sind. Wir finden Stäbchenbakterien mit halbkugeligen Enden, wie eines in *a* der Figur 2 im optischen Längsschnitt abgebildet ist. Die Ausbauchung der Enden kann immer geringer werden und schließlich ganz aufhören, so daß die Stäbchenbakterie wie abgehackt erscheint. In *b*, *c* und *d* der Figur 2 sind einzelne Formen der Zellenden wiedergegeben, die natürlich durch alle erdenklichen Übergangsformen verbunden sind. Die Ausbauchung der Bakterienenden nimmt aber auch bei vielen Arten eine mehr spitze Form an, wie es in *e* der Figur 2 dargestellt ist. In allen diesen Fällen liegt aber die größte Ausladung oder besser gesagt, der äußerste

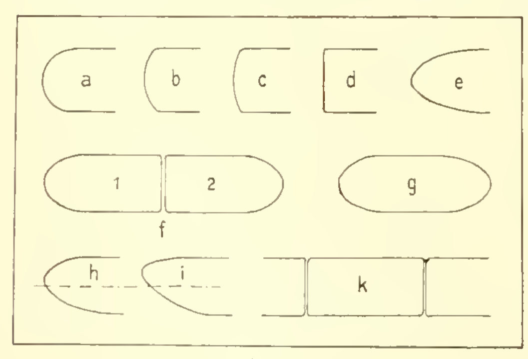


Fig. 2.

Punkt der ausgebauchten Endfläche in der Längsachse des Stäbchenbakteriums. Es sind aber auch zahlreiche Stäbchenbakterienarten bekannt geworden, deren ausgebauchtes, meistens ziemlich spitz auslaufendes Ende nicht in der Zellachse liegt, wie es *h* und *i* der Figur 2 dartut, wobei die strichpunktierte Linie die Achse markiert. Werden nach der Teilung die Zellen frei und kommen als Einzelzellen zur Beobachtung, bemerkt man meistens an ihnen gleichgestaltete Zellenden, wie es *g* der Figur 2 zeigt. Unmittelbar nach der Teilung, wenn sich die Tochterindividuen eben von einander getrennt haben, sind die Zellenden derselben meistens ungleich gestaltet, außer es handelt sich um Bakterien, deren Enden *d* der Figur 2 entsprechen. *f* der Figur 2 gibt die bei den Tochterzellen einer Stäbchenbakterie stark ausgebauchten Zellenden unmittelbar nach der Teilung wieder. Die Zelle 1 und 2 hat ein ausgebauchtes und ein ebenes Ende und erst beim völligen Freiwerden beider Zellen wölbt sich letzteres soweit hervor, daß gleichgestaltete Zellenden zustandekommen (*g* der Figur 2). Bildet dieselbe Bakterie Zellfäden, so besitzen die einzelnen, im Innern des Fadens liegenden Zellen ausschließlich ebene Enden (vgl. *k* der Figur 2); nur die beiden äußersten Zellen weisen peripher die ausgebauchten Begrenzungsflächen auf.

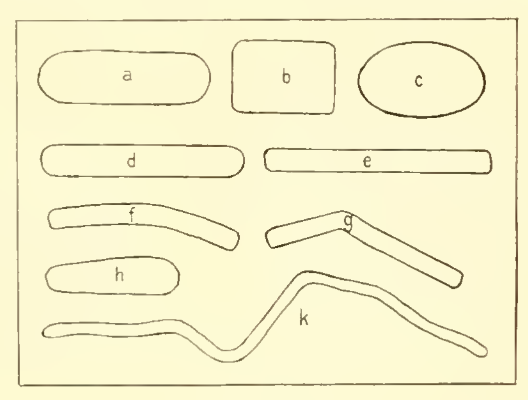


Fig. 3.

Einzelne Stäbchenbakterientypen sind in der Figur 3 zusammengestellt. Diese Zusammenstellung ist aber keineswegs irgendwie vollständig, denn alle hier wiedergegebenen Formen sind untereinander durch Übergänge verbunden. Die Bakterien sind hier ebenfalls der einfacheren Darstellung wegen im Längsschnitt gezeichnet. *a* und *c* zeigen uns mehr plumpe Stäbchenbakterien mit ausgebauchten und ebenen Zellenden. *d* runde, schlanke und zarte Zellen. Endlich veranschaulicht uns *c* eine ovale Stäbchenbakterie, die eigentlich bei einer strengen Auffassung des Begriffes Stäbchenbakterie als Zylinder gar nicht in diese Bakteriengruppe gehört. So scharf brauchen wir aber den Begriff nicht zu umgrenzen, da manches streng als Zylinderzelle wachsende Bakterium unter besonders günstigen Lebensbedingungen als ovales Gebilde vegetiert. Wir finden eben keineswegs immer reine Zylinderformen, weshalb uns die Stäbchenbakterien im optischen Längsschnitt nicht immer mit parallelen Längskonturen erscheinen. Es kommt auch vor, daß wir Bilder erhalten, die der Zeichnung *h* der Figur 3 entsprechen. Auch kann man häufig leicht gekrümmte oder sogar geknickte Stäbchenbakterien bemerken, wie sie uns *f* und *g* der obengenannten Figur aufweisen. Dazu sei aber gleich bemerkt, daß solche Formen gewiß nicht den unmittelbaren Teilungsprodukten entsprechen, sondern älteren, besonders lang ausgewachsenen Zellen, die bei der Teilung, wenn eine solche überhaupt noch zustande kommt, wieder gerade gestreckte Tochterzellen ergeben. Früher wurde schon von Stäbchenbakterien gesprochen, die in Fadenverbänden vereint bleiben. Mitunter kommt es

sogar zu einem völligen Verschwinden der die einzelnen Zellen trennenden Scheidewände, so daß der Bakterienfaden als einzelne Zelle von enormer Länge imponiert. Es zeigen sich Bildungen, wie sie in *k* der Figur 3 gezeichnet sind. Eigentlich gehören letztere überhaupt nicht hierher, da hier nur die vegetativen Wuchsformen der Bakterien besprochen werden sollen, während diese Fadenbildungen entweder zum Tode der Zellen führen oder zu gewissen Dauerzuständen, die später abgehandelt werden sollen. Anders verhält es sich mit den „Fadenbakterien“, deren Fäden ebenfalls aus einzelnen Bakterienzellen bestehen, die aber immer nach der Teilung im Fadenverbande verbleiben. Die Einzelzellen besitzen auch hier die typische Zylindergestalt mit den angegebenen Formen.

Den dritten Typus der Bakterienformen stellen vor die

Schraubenbakterien (Spirillen).

Wie schon der Name aussagt, besitzen die hierher gehörigen Bakterienarten einen regelmäßig schraubig gekrümmten Vegetationskörper, dessen Form mitunter einem vollen Schraubenumgang entspricht, meistens aber nur einem Teil eines solchen. Abbildung 4 zeigt uns das Photogramm von Modellen zweier Schraubenbakterien. Oben gewahren wir ein Spirillum, dessen Zelle die Krümmung eines vollständigen Schraubenumganges aufweist, während das untere Spirillum nur einem Bruchteil eines Umganges entspricht. Die äußere Gestalt erscheint dem Beschauer bei ein und demselben Schraubenbakterium verschieden; bedingt ist dieses Verhalten in der Neigung der Achse des Spirillums zum Beobachter, wie aus der Figur 5 ohne weiteres hervorgeht. Hier ist dasselbe Spirellenmodell abgebildet, wie oben in der Figur 4. Die Achse der Schraubenbakterie fällt aber fast mit der Sehachse zusammen, während sie bei der Figur 4 in der Bildebene liegt.

Fig. 4.



Fig. 5.

Die Gruppe der Schraubenbakterien weist ebenfalls einen großen Formenreichtum auf, der in erster Linie zurückzuführen ist auf Verschiedenheiten der Zelldicke und der Höhe der Schraubenwindungen. Daneben ist auch von Bedeutung der Durchmesser der Schraubenumgänge. Die Zellenden weisen keine so zahlreichen Formen auf, wie wir sie bei den Stäbchenbakterien gefunden haben.

In weitaus den meisten Fällen zeigt eine Bakterienart nur Wuchsgestalten, die einem der genannten drei Grundformen angehören. Dies gilt vornehmlich für die reproduzierbaren Formen, das heißt für diejenigen Wuchsgestalten, die bei ihrer Teilung wieder der Mutterzelle gleichgeformte Tochterzellen liefern. So entstehen bei der vegetativen Vermehrung aus einer Stäbchenbakterie bei der Teilung wieder zwei neue gleichgeformte Stäbchenbakterien; es findet also bei der Teilung eine Reproduktion der ursprüng-

lichen Gestalt statt. In allen Generationen unter allen Bedingungen, die eine Vermehrung überhaupt zulassen, wird im Prinzip die Stäbchenform beibehalten. Die Bakterienarten gehören also in der Regel in bezug auf ihre reproduzierbaren Vegetationsformen einem einzigen Typus an. Man findet in dieser Hinsicht aber auch Ausnahmen. So wächst eine Leuchtbakterienart, Pseudomonas photogena, auf den meisten tauglichen Nährsubstraten als Kugelbakterie und nur in Peptonwasser ausschließlich als Stäbchenbakterie. Unsere Figur 6 illustriert diese Verhältnisse. In *A* dieser Figur sehen wir diese Bakterie in reiner Kugelgestalt auftreten, mit Teilungserscheinungen, die wir bei Kokken zu sehen gewohnt sind. Bringen wir aber diese Bakterienart in einer reinen Peptonlösung zur Entwicklung, so gewahren wir ausschließlich Stäbchenformen, wie sie in *B* der Figur 6 wiedergegeben sind. Unter sehr günstigen Ernährungsbedingungen neigen übrigens die meisten Stäbchenbakterien dazu, sehr kurze Wuchsformen auszubilden, die in einigen Fällen fast reine Kugelgestalt aufweisen. Ein Beispiel dafür ist der Bacillus prodigiosus oder Wunderblutbazillus, dessen Stäbchen unter weniger günstigen Wachstumbedingungen bei noch guter Vermehrung etwa zweimal so lang als breit erscheinen. Kommt die Art aber in sehr gute Wachstumsbedingungen, dann treten kurze und eiförmig bis kugelig gestaltete Zellen im Anfang der Entwicklung auf, während in den älteren Kulturen neben den kugeligen Formen wieder die Stäbchen erscheinen.

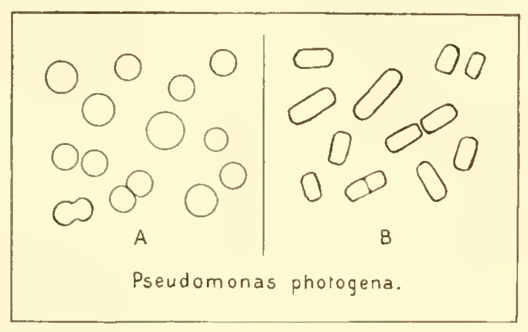


Fig. 6.

Den geschilderten drei Grundtypen lassen sich alle Bakterien einreihen, auch die einzelnen Zellen der höher organisierten Faden- und Scheidenbakterien, die Schwefel- und Purpurbakterien.

Im Laufe der Zeit wurden allerdings noch Bakterienformen bekannt, die infolge ihres abweichenden Baues in keine der drei genannten Grundformen eingereiht werden können. Es sind aber nur einzelne Befunde; überdies scheinen einige derselben überhaupt nicht den Bakterien zuzugehören. Sie seien deshalb nur kurz erwähnt. So fand Ehrenberg einmal in Sibirien einen Organismus von schneckenartiger Gestalt mit breiter Basis, den er zu den Bakterien stellte und Spirodiscus benannte. Warming beschrieb eine Spiromonas von bandförmiger, beiderseits zugespitzter Gestalt.

Außerordentlich verschieden ist die **Größe der Bakterien.**

Im allgemeinen zeigen sich Größenunterschiede zwischen den Vertretern verschiedener Bakterienarten und den einzelnen Zellen ein und derselben Art. Selbst in Kulturen einer Bakterienspezies finden wir keineswegs nur gleichgroße Zellen, da ihre Größe von dem Alter und dem Zustande der Kultur überhaupt abhängig ist. Ein richtiges Urteil können wir über die Größe der Bakterien nur dann gewinnen, wenn wir sie in

ungefärbtem, lebenden Zustande messen. Den Maßangaben müssen aber auch genaue Daten über die Kultur, die Ernährungsverhältnisse und die Temperatur beigefügt werden, wenn sie allgemein verwertbar sein sollen.

Die Bakterien sind die kleinsten, bisher beobachteten Organismen. Sie messen im kürzesten Durchmesser meistens kaum 1 μ. Allerdings finden wir unter ihnen auch Riesen.

Die folgende Zusammenstellung enthält eine Reihe von Größenangaben über Kugel-, Stäbchen- und Schraubenbakterien; bei letzteren entspricht die Längenangabe nicht der wahren Zellenlänge, sondern der Höhe der von der Zelle gebildeten Schraube.

		Durchmesser in μ	
Kugelbakterien	1. Micrococcus progrediens	0,15	
	2. Micrococcus ureae Cohn	1—1,5	
	3. Sarcina mexima	4	
	4. Thiophysa volutans (Schwefelbakterie)	7—18	
		Länge in μ	Breite in μ
Stäbchenbakterien	5. Pseudomonas indigofera	0,18	0,06
	6. Influenzabazillus	bis 4,2	0,4
	7. Methanbazillus	5	0,4
	8. Urobazillus Duclauxii Miquel	2—10	0,6—0,8
	9. Bacillus nitri Ambrož	3—8	2—3
	10. Beggiatoa alba (Schwefelbakterie)	2,9—5,8	2,8—2,9
	11. Chromatium Okenii (Schwefelbakterie)	10—15	5
	12. Beggiatoa mirabilis (Schwefelbakterie)	20—25	40—50
	Spirillum volutans	10—20	1,5—2

Noch besser soll folgende in Fig. 7 gegebene schematische Zusammenstellung die Größenverhältnisse veranschaulichen. Hier sind die genannten Kugelbakterien durch schwarze Kreise angedeutet, während die Stäbchenbakterien durch schwarze Rechtecke in 2000facher Vergrößerung zur Darstellung gelangen. Die beigesetzten Ziffern entsprechen denen der obigen Zusammenstellung.

Durch die Betrachtung der Fig. 7 gewinnt man erst eine richtige Vorstellung von den Größenunterschieden, die die verschiedenen Bakterienarten untereinander aufweisen. Von der Kleinheit dieser Organismen bekommt man einen richtigen Begriff, wenn man die größten unter den Bakterien mit Objekten bekannter und geläufiger Größe vergleicht, wie etwa mit derjenigen des menschlichen Kopfhaares. Die Zellbreite von Beggiatoa mirabilis, der größten bekannten Bakterienart, mißt im Maximum etwa soviel als die Dicke eines dünnen menschlichen Kopfhaares, während die Länge der Zelle etwa halb soviel ausmacht. Man kann also einen Zellfaden dieser Schwefelbakterie mit freiem Auge noch ganz gut wahrnehmen, während selbstverständlich die einzelnen Zellen dabei nicht sichtbar sind. Die kleinen Bakterien sind in bezug auf ihre Dicke und Länge ja sehr viel kleiner, denn man könnte beispielsweise von den meisten Kugelbakterienarten längs des Durchmessers eines Haares ungefähr 50 Stück aneinanderreihen, um ihn ganz zu belegen.

Die kleinsten Bakterien sind tatsächlich schon an der Grenze des überhaupt mit den besten optischen Hilfsmitteln sichtbaren. Wir verfügen allerdings heute über neue Einrichtungen, die eine wesentlich stärkere Vergrößerung zulassen und kleinste Teilchen unter der Wellenlänge des sichtbaren Lichtes zu beobachten gestatten. Unter Anwendung von kurzwelligem (ultraviolettem) Lichte in der Mikrophotographie gelingt

es, kleinste Objekte bei Vergrößerungen bis zu 4000fach linear abzubilden. Andererseits ermöglicht das Ultramikroskop von Siedentopf und Zsigmondy den Nachweis kleinster Teilchen, deren Größe nur mehr Millionstel eines Millimeters beträgt. Trotz dieser Hilfsmittel ist es den Mykologen bisher nicht gelungen, kleinere Organismen als die kleinsten Bakterien nachzuweisen.

Entsprechend der verschiedenen Größe besitzen die Bakterien auch eine verschieden große Oberfläche und ein verschieden großes Volumen. Bei gleichem Volumen ist die Oberfläche der Kugelbakterien kleiner als diejenige der übrigen Bakterien. Auch wird mit zunehmendem Volumen die Oberfläche relativ kleiner, wie man sich rechnungsmäßig sofort überzeugen und aus folgendem Beispiel ersehen kann.

Die Oberfläche einer Kugelbakterie betrage $12 \cdot 57\ \mu^2$, was einem Radius von $1\ \mu$ und einem Volumen von $4 \cdot 19\ \mu^3$ entspricht. Eine

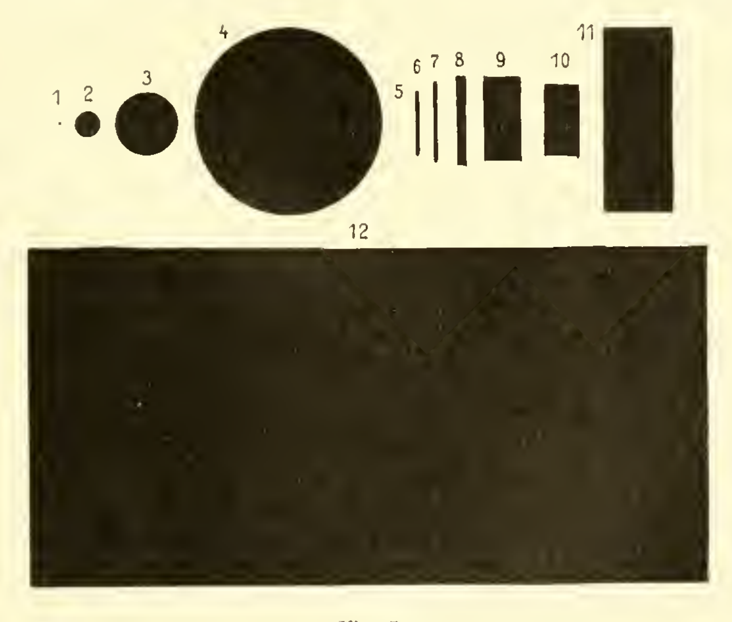


Fig. 7.

Kugelbakterie von doppelt so großer Oberfläche, also $25 \cdot 14\ \mu^2$ hat fast den dreifachen Rauminhalt, denn er beträgt in diesem Falle $11 \cdot 85\ \mu^3$.

Wir haben bisher nur Bakterienformen in den Kreis unserer Betrachtungen gezogen, die sich bei der Teilung wieder reproduzieren, also Tochterindividuen erzeugen, die den Mutterzellen in jeder Beziehung gleich sind. Es treten uns die Bakterien aber auch in zahlreichen anderen Formen entgegen, die wir in das oben aufgestellte Schema der drei Grundtypen nicht mehr einreihen können und die überhaupt nicht mehr zu Teilungen schreiten oder höchstens andersgestaltete Bildungen abschnüren oder zu solchen zerfallen.

Wir müssen hierher alle Formen rechnen, die nicht zum normalen Entwicklungskreis gehören oder zu einem besonderen Dauerzustand führen.

So dokumentieren sich die Absterbeerscheinungen bei den Bakterien in vielen Fällen durch das Auftreten besonderer Wuchsformen, aus denen schließlich nicht mehr teilungsfähige und überhaupt lebensfähige Produkte hervorgehen, die alsbald dem Tode und Zerfall anheimfallen. Solche Formen können rasch unter ungünstigen äußeren Lebensbedingungen zu-Stande kommen oder sich durch Generationen hindurch langsam aber stätig ausbilden. Dies gilt für Fälle, wo Bakterien in Reinkulturen dauernd unter Bedingungen gezüchtet werden, die zwar nicht unbedingt tötend auf die Zellen wirken aber doch leicht schädigend. Trotzdem sicherlich eine ziemlich ausgiebige Anpassungsfähigkeit für die Bakterien erwiesen ist, so kommt es doch schließlich zu Generationen, die sich nur mehr schlecht vermehren und Degenerationsformen aufweisen. Man bezeichnet alle diese Formen auch als Involutionsformen. Sie sind aber mitunter schwierig von den später zu besprechenden „terratologischen Wuchsformen" und Formen zu unterscheiden, die normalerweise im Entwicklungskreis einer bestimmten Bakterienart auftreten.

Involutionsformen

im strengen Sinne des Wortes sind also alle jene Wuchsgestalten die nicht mehr wachstumsfähig sind und nicht in den normalen Formenkreis einer Bakterienart gehören. Beim Übergang einer Bakterienart in das Stadium des Absterbens können allerdings Wuchsgestalten auftreten, die, rechtzeitig in günstige Lebensbedingungen zurückgebracht, sich wieder vollständig regenerieren. Sie sollen ebenfalls zu den Involutionsformen gerechnet werden. Sie sind meist von unregelmäßiger Gestalt, kugelig, blasig und kolbig, und bedeutend größer als die typische und reguläre Form. In vielen Fällen entstehen aus den normalen Stäbchen ungeheuer lange, unregelmäßig gekrümmte Fadenbildungen, deren Dicke sehr ungleich ist. Es sind Riesenbildungen, welche gewöhnlich in kurzer Zeit absterben und zerfallen.

Zu Formen, die den Involutionsformen äußerlich ähnlich oder gleich sind, kommt es auch, wenn spezifische chemische Wachstumsreize auf die Zelle einwirken, die aber nicht schädigend sind. Auch physikalische Einflüsse führen zu besonderen Wuchsgestalten. Diese Wuchsformen, die keineswegs als Ausdruck einer Degeneration aufgefaßt werden dürfen, können wir mit Maassen unter der Bezeichnung **„terratologische Wuchsformen"** zusammenfassen. Die Anwesenheit gewisser Salze im Nährsubstrat, wie Ammoniumchlorid, Magnesiumchlorid, Kochsalz u. a. in etwas vermehrter Menge löst das Auftreten solcher Gestalten aus. Die einzelnen Bakterienarten reagieren in dieser Hinsicht verschieden gegen diese Salze und zeigen ein ellektives oder auswählendes Verhalten. Sobald solche Formen in Nährlösungen gebracht werden, denen diese Salze fehlen, nehmen sie die ursprüngliche Form alsbald an und vermehren sich in gewöhnlicher Weise. Auch Temperaturen, in welchen das Wachstum bereits langsamer wird, wirken als Reiz für die Bildung terratologischer Wuchsformen. Dies zeigen sehr instruktiv die meisten Essigbakterien. So bildet nach den Untersuchungen Emil Christian Hansen's Bacterium Pensteurianum, eine Essigbakterie, bei der Zucht in Doppelbier und bei 34° C lange Ketten, die aus gleichmäßig großen Stäbchenbakterien bestehen, wie es *a* der Figur 8 zeigt. Verimpft man nun von diesen Ketten etwas auf Doppelbier-Agar und hält diese

Kultur bei ca. 40,5° C. dann findet im Laufe der weiteren Entwicklung eine völlige Umwandlung der Form statt, wie es *b—e* dieser Figur dartut. Schon nach 5 Stunden sind die einzelnen Zellen der Kette vergrößert (*b* Figur 8), noch mehr nach 9 Stunden (*c* Figur 8). Nach 10 Stunden sind die Stäbchen schon sehr beträchtlich vergrößert (*d* Figur 8) und nach 21 Stunden finden sich nur mehr enorm lange Fäden und riesig verdickte

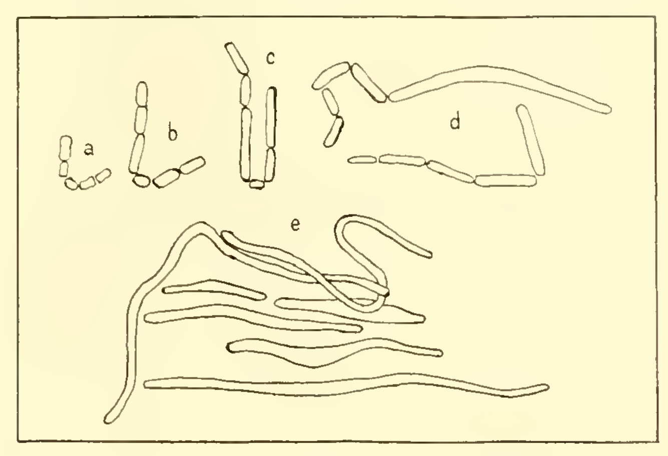
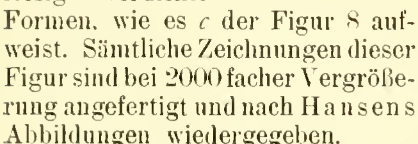


Fig. 8.



Formen, wie es *c* der Figur 8 aufweist. Sämtliche Zeichnungen dieser Figur sind bei 2000facher Vergrößerung angefertigt und nach Hansens Abbildungen wiedergegeben.

Kommen die nach 21 Stunden ausgebildeten Riesenwuchsformen wieder in die für diese Essigbakterie günstigste Temperatur von 34° C, dann findet eine Neubildung der Kurzstäbchen über eine Reihe neuer Formen hinüber statt, wie es ebenfalls nach Hansens Zeichnungen in der folgenden Figur 9 zur Anschauung gebracht ist. Die Fadenformen vergrößern sich noch mehr und bilden Anschwellungen aus, wie es *a* der Figur 9 zeigt. Diese Erscheinung tritt schon nach kurzem Aufenthalt der Fäden in der günstigen Temperatur (4 Stunden bei der abgebildeten Zelle *a*, Figur 9) auf. Nach 5 Stunden (*b* der Figur 9) sind die Zellen schon sehr angeschwollen und alsbald schnüren sich von den verjüngten Enden der Anschwellungen des normalen Kurzstäbchen ab, wie es in *c* dieser Figur angedeutet ist.

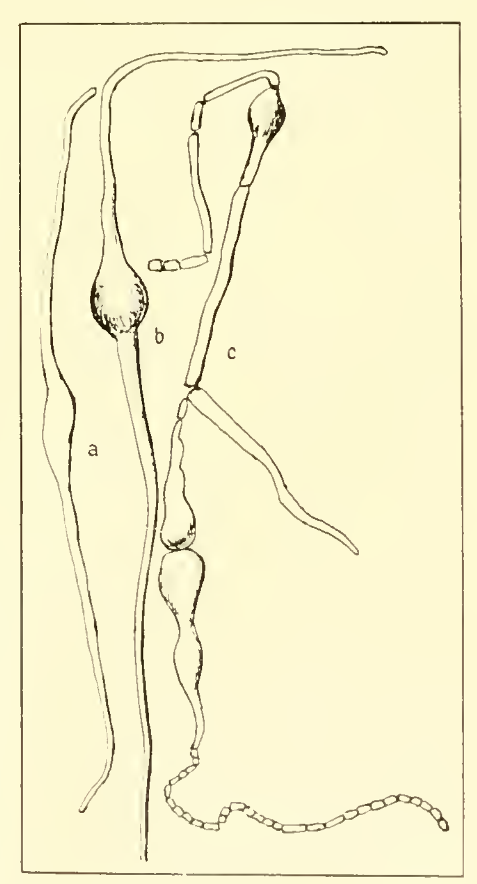


Fig. 9.

Außer den genannten Gestalten finden wir bei den vegetativen Zellen noch echt **verzweigte Formen.**

Diese Erscheinung findet sich im Reich der Bakterien nicht allzuhäufig, kann aber gelegentlich bei jeder Bakterienart auftreten, wie aus den zahlreichen Befunden hervorgeht. Jedenfalls sind es keine immer auftretenden Entwicklungsformen, obwohl sie gewiß mit Degenerationserscheinungen **nichts** zu tun haben. In einzelnen Fällen hat es geradezu den Anschein, als führe die verzweigte Form zu gewissen Dauerzellen, wie später dargetan werden soll. Wieder in anderen Fällen stellen sich Verzweigungen ohne weitere kolbige Anschwellungen dann ein, wenn die Ernährungsbedingungen mit zunehmendem Alter der Bakterienkultur ungünstig werden. Hier ist ihnen der Involutionscharakter allerdings nicht ohne weiteres abzusprechen. Eine Reihe von menschenpathogenen Bakterienarten neigt besonders zur Ausbildung von Verzweigungen mit oder ohne kolbige Auftreibungen derselben, wie der Tuberkelbazillus, Diphtheriebazillus und auch Rotzerreger.

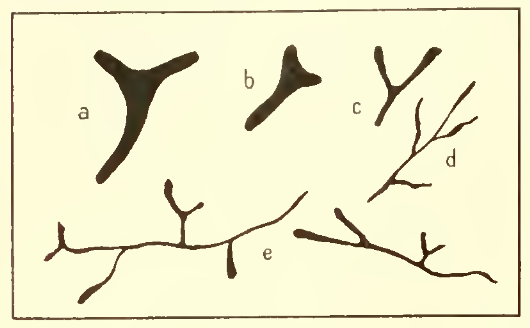


Fig. 10.

In der folgenden Abbildung 10 ist eine Reihe von verzweigten Bakterienzellen zusammengestellt.

A der Figur 10 zeigt uns eine Verzweigung der Essigbakterie Bacterium aceti, *b* des Spirillum volutans, einer großen Schraubenbakterie, *c* des Diphtheriebakteriums, *d* des Rotzbakteriums und endlich *e* des Erregers der Menschentuberkulose, wo ebenso wie bei *c* die Kolbenbildung deutlich zu erkennen ist.

Mit diesen **echten Verzweigungen** sind jene Verzweigungen eines Zellfadens nicht zu verwechseln, die dadurch zustandekommen, daß sich Fadenglieder seitlich hinausschieben und dann weiter teilen. Wir finden solche **falsche Verzweigungen** oder **Pseudoramifikationen** in der Regel bei einzelnen Fadenbakterien und auch kleineren Stäbchenbakterien, die in Fadenverbänden wachsen. Verwechslungen mit echten Verzweigungen kommen sehr leicht bei der Durchforschung gefärbter Präparate vor, da hier die Farbschichte sehr häufig einen Zusammenhang einzelner Zellen vortäuscht. Figur 11 zeigt uns in *a* den ungefärbten Zellfaden in dem die einzelnen Glieder gut zu erkennen sind und wo sich von einer herausgeschobenen Zelle ein zweiter Faden entwickelt hat. Im gefärbten Zustande, dem *b* dieser Figur entspricht, sieht man keinen Zusammenhang mehr, was den Eindruck einer echten Verzweigung hervorbringt, obwohl in Wirklichkeit nur eine Pseudoramifikation vorliegt.

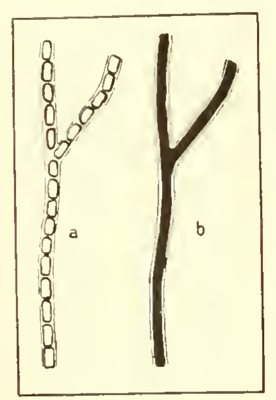


Fig. 11.

Wenn wir auch bisher eine reiche Formenfülle bei den Bakterien feststellen konnten, darf aber trotzdem nicht von einer **Pleomorphie** dieser Organismen gesprochen werden. Man versteht darunter eine Vielförmig-

keit der reproduzierbaren Formen einer Bakterienart, die ziemlich unabhängig von äußeren Einflüssen auftritt. Zahlreiche Forscher huldigten der Anschauung, daß uns ein und dieselbe Bakterienart in vielerlei Gestalt mit vielen verschiedenen Äußerungen gegen die umgebenden Stoffe entgegentreten kann. Ja man meinte sogar, daß die Bakterien nur einen bestimmten Entwicklungszustand höher organisierter Pilze vorstellen. Dementsprechend bemühte man sich auch, die verschiedenen Arten ineinander umzuzüchten. Aber alle angeblich erfolgreichen Versuche dieser Art hielten einer einwandfreien und strengen Nachprüfung nicht Stand.

Wenn wir unter Pleomorphie einer Bakterienart nur das Auftreten verschiedener Wuchsgestalten im Entwicklungskreis einer einzelnen Bakterienart verstehen, ist dagegen nichts einzuwenden. Die oben gegebene weitere Fassung dieses Begriffes ist aber als unbegründet abzulehnen.

DRITTE VORLESUNG.

Der feinere Bau der vegetativen Bakterienzelle.

Obgleich die Bakterien in der weitaus überwiegenden Mehrheit winzig kleine Organismen sind, besitzen sie dennoch einen sehr komplizierten **feineren Bau.**

Eben wegen ihrer Kleinheit ist die Untersuchung desselben trotz der heute außerordentlich gesteigerten Leistungsfähigkeit der Mikroskope sehr schwierig. Immerhin sind wir auf Grund zahlreicher Untersuchungsergebnisse berechtigt, an den Bakterien alle jene Bestandteile zu unterscheiden, die jede pflanzliche Zelle aufweist. Wir finden ein Protoplasma mit seinen Einschlüssen, das von einer besonderen Hülle, einer Membran oder Zellwand, allseits umgeben ist.

Das **Protoplasma**

der Bakterienzelle zeigt schon im lebenden Zustande häufig eine Reihe von Einschlüssen, noch besser aber nach vorangegangener Einfärbung mit verschiedenen Anilinfarben. Besonders gut zu beobachten sind die feineren Einzelheiten des Baues bei großen Formen, an denen man ebenso wie in den Zellen höherer Pflanzen einen protoplasmatischen Wandbelag von zäherer und dichterer Beschaffenheit von einem dünnflüssigen Innenkörper, der den Zellsaftraum erfüllt, unterscheiden kann. Unter bestimmten Lebensbedingungen und besonders in älteren Zellen findet man das Protoplasma oft von mehreren Vakuolen durchsetzt, deren Inhaltsflüssigkeit nur schwach lichtbrechend ist. Bei den kleinen Bakterien fehlen diese Unterschiede und besonders an jungen Zellen fällt die gleichmäßig homogene Beschaffenheit des Plasmas in seiner Gänze auf, womit aber nicht gesagt sein soll, daß hier kein Zellsaftraum vorliegen könne, der wegen der Kleinheit dieser Organismen in den meisten Fällen nicht zur Beobachtung gelangt. Wir sind geradezu gezwungen, einen Zellsaftraum überall dort anzunehmen, wo Plasmolyse erzeugt werden kann. Nach den Untersuchungen A. Fischers zeigen die meisten Bakterien plasmolytische Erscheinungen. Wenn Bakterienzellen in eine Flüssigkeit gebracht werden, die stark osmotisch wirksame Salze enthält, so zieht sich der Bakterienprotoplast zusammen, wie es auch bei jeder höheren Pflanzenzelle zu beobachten ist. Diese Erscheinung bezeichnet man als Plasmolyse. Dieselbe zeigen weitaus die meisten Bakterien.

Im Protoplasma finden wir nun eine Reihe von geformten Einschlüssen, die als feine Kügelchen oder Tropfen auftreten, oder aber untereinander netzartig verbunden erscheinen. Gegenüber Färbungsprozessen erweisen sie sich verschieden. Schon sehr früh wurde auf solche Granula von verschiedenen Seiten aufmerksam gemacht und ihnen mancherlei Rolle im Zellhaushalt zugedacht. Einige Forscher wollen in einzelnen von ihnen auch den Kern der Bakterienzelle erblicken. Um die Bakterien mit Recht als Zellen bezeichnen zu dürfen, müssen wir tatsächlich auch Kern und Protoplasma in ihnen nachgewiesen haben.

Die Kernfrage bei den Bakterien ist bis heute nicht im eindeutigen Sinne gelöst, obwohl die Lösung derselben viele Forscher beschäftigt. Die erhaltenen Ergebnisse sind so außerordentlich verschieden, daß sie derzeit unmöglich zur Aufstellung eines einheitlichen Begriffes vom Bakterienkerne verwendet werden können. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Kernverhältnisse bei den einzelnen Bakterienarten außerordentliche Verschiedenheiten aufweisen. Entsprechend dem Entwicklungszustande kann der Kern auch bei ein und derselben Zelle verschiedene Gestalten aufweisen, da er in inniger Beziehung zur Vermehrung und Teilung derselben steht. Auch wird der Kern keineswegs als einheitliches Gebilde mit allen morphologischen Bestandteilen des Zellkernes von Zellen höherer Organismen auftreten müssen, da wir es ja mit den niedersten Organismen zu tun haben. Sicherlich enthält er aber in chemischer Hinsicht alle Stoffe, die auch den Kern höherer Zellen zusammensetzen. Auch die Teilungsvorgänge werden anders morphologisch charakterisiert und mit größter Wahrscheinlichkeit einfacher gestaltet sein als beim Kern der vielzelligen Organismen.

Eine lückenlose Beobachtung des ganzen Kernteilungsvorganges mit allen dabei auftretenden Formveränderungen ist wegen der Kleinheit der Objekte und wegen der Menge anderer Zelleinschlüsse bei der lebenden Bakterienzelle kaum durchführbar.

Nach allen Untersuchern, die überhaupt einen Kern oder Kernsubstanz in der Bakterienzelle nachgewiesen haben, ist die Organisation der Kerngebilde bei den Bakterienarten sehr verschieden. In den allerjüngsten Entwicklungsstadien scheint ein bestimmt geformter Kern mitunter sehr schwer oder gar nicht nachweisbar zu sein. In diesen Fällen dürfte der Kern als „chromidiales System" Hertwig's aufzufassen sein, das aus äußerst fein verteiltem Chromatin besteht. Bei vielen Bakterien enthalten die jugendlichen Zellen ein Chromatinkorn, das nach A. Mayer u. A. als Kern aufzufassen ist und sich bei der weiteren Entwicklung in mehrere Stücke aufteilt. In der Tat zeigen z. B. die jüngsten Zellen von Spirillum volutans nur ein einziges Korn, das sich bei der Behandlung mit essigsaurer Methylgrünlösung gut färbt. Später findet man mehrere Körnchen, die durch ein Netzwerk verbunden erscheinen. Letzteres zeigt häufig eine spiralige Anordnung, wie es auch Swellengrebel für den „Spiralkern" von Bacillus maximus buccalis, Ambrož und Růžička für den Kern von Bacillus nitri und andere angeben. Bei anderen Bakterien finden wir wieder in der Jugend entweder ein „chromidiales System" oder ein Chromatinkorn als Kern. Im ersteren Falle findet meist eine Verdichtung des Chromidialapparates zu einem geschlossenen Chromatinkorn statt, das sich in der Folge dann vergrößert und längsstreckt und schließlich ohne Ausbildung irgend eines Spindelapparates teilt. Es kann auch zur Zer-

schnürung in mehrere Teilstücke kommen, die ebenfalls Kugelgestalt aufweisen. Vor der folgenden Teilung scheint es wieder zu einer feinen Verteilung der Chromatinmassen zu kommen, die sich später wieder zu kompakteren Kerngebilden vereinigen. Es dürften aber auch kompliziertere Teilungserscheinungen beim Bakterienkern auftreten, da Mencl Kerne mit Kernmembran und bei der Teilung sich verdoppelnden Chromosomen bei einigen Bakterien beschreibt und abbildet. Einen kurzen Überblick über die Kernformen der vegetativen Bakterienzellen soll folgende Figur 12 geben, in der eine Reihe typischer Kernbefunde nach verschiedenen Autoren zusammengestellt ist, die aber natürlich keinen Anspruch auf Vollständigkeit erhebt. Die Figuren sind in bezug auf die äußere Zellgestalt etwas schematisiert.

Wir sehen hier den Kern des Kartoffelbazillus entweder als homogenes Kügelchen oder in feinste Körnchen, Granula, aufgelöst,

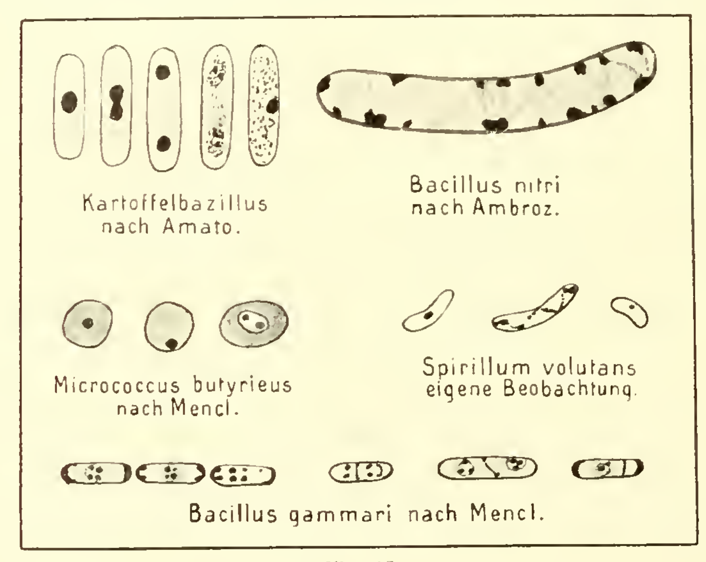


Fig. 12.

oder endlich in beiden Formen in der gleichen Zelle. Der Bacillus nitri zeigt uns eine „Kernspirale" mit eingelagerten Chromatinbröckchen. Im Micrococcus butyricus gewahrt man nur kompakte Kerne, während Spirillum volutans nach Methylgrünfärbung entsprechend dem Entwicklungszustand einen größeren oder kleineren Kern, oder eine Art Kernspirale aufweist. Kompliziertere Verhältnisse findet man beim Bacillus gammari, wo wir in der Tat die Chromatinmasse in eine Art Chromosomen von bestimmter Anzahl und Anordnung aufgeteilt sehen und eine Kernmembran entwickelt finden. Daneben fällt in vielen Fällen noch eine polare Anhäufung von Kernsubstanz auf.

Man kann im allgemeinen sagen, daß den Bakterien ebenfalls ein Kern zukommt wie allen anderen Zellen, nur erscheint er in den verschiedensten Formen, vom Hertwigschen Chromidialnetz oder chromidialen System angefangen bis zu kompakten Gebilden, deren Teilung sehr

einfach sein kann oder auch schon die Erscheinungen einer zumindest vereinfachten Mitose aufweist.

Die Mengenverhältnisse zwischen Plasma und Kern variieren ebenfalls sehr, insofern ersteres mitunter sehr in den Hintergrund treten kann. Gleichfalls durchaus berechtigt ist die Anschauung von einer ständigen Umbildung von Plasma in Kernsubstanz und umgekehrt. Auch die Labilität dieser Zellbestandteile ist durch Untersuchungen von Růžička u. A. erwiesen. Andererseits sind wir aber nicht befugt, den Bakterienkörper entweder für einen kernlosen Organismus zu erklären oder für einen nackten Kern ohne Protoplasma.

Neben den Kernen finden wir in den Bakterien noch eine Reihe von geformten Einschlüssen, die sowohl in ihrer Form als auch in ihrem Verhalten zu verschiedenen Farben und Reagentien verschieden sind.

Vor allen Dingen schon in der lebenden Zelle durch ihr stärkeres Lichtbrechungsvermögen auffallend sind Plasmaverdichtungen, die alle basischen Anilinfarben sehr leicht und ausgiebig annehmen und bei Entfärbungsversuchen schwerer wieder abgeben, als die übrigen Zellbestandteile. Man faßt sie kurz als

metachromatische Körnchen

zusammen. Sie wurden eingehend von den verschiedenen Autoren beschrieben. Ihre Größe und Anzahl ist bei ein und derselben Bakterienart großen Schwankungen unterworfen. Eine Klassifikation derselben ist vorläufig ausgeschlossen. Jedenfalls fallen unter den Begriff metachromatische Körnchen ihrer Natur nach verschiedene Granula. Viel besser erkannt ist die Natur von einigen anderen Zelleinschlüssen, die wir ihrer chemischen Beschaffenheit wegen in stickstoffhaltige und stickstofffreie trennen.

Unter den Bakterien weit verbreitet ist das stickstoffhaltige

Volutin.

Diesen eigenartigen Reservestoff hat Arthur Meyer zuerst genau untersucht und beschrieben. Er fand ihn in Form von größeren und kleineren Kugeln im Zellkörper von Spirillum volutans Kutscher und später in zahlreichen anderen Pilzzellen. Das Volutin ist farblos und stark lichtbrechend und befindet sich in der Zelle in zähflüssigem oder breiigem Zustande. In der folgenden Tabelle ist sein Verhalten gegen eine Reihe von Lösungsmitteln, wässerigen Farbstoffen und Jodkaliumlösungen zusammengestellt.

Wasser von 28° C:	Lösung der Volutanskugeln in 2 Tagen.
„ „ 80—100° C:	„ „ „ „ wenigen Minuten.
5 proz. Schwefelsäure:	„ „ „ „ 10 Minuten.
Gesättigte wäßrige Sodalösung:	„ „ „ „ wenigen Minuten.
Chloralhydrat (5 + 2 H_2O):	In 5 Minuten keine Lösung.
10 proz. Chlornatriumlösung:	„ 15 „ „ „
Eau de Javelle:	„ 5 „ „ „
Alkohol:	Unlöslich.
Äther:	„
Chloroform:	„
Tetrachlorkohlenstoff:	„

1 Methylenblau + 10 Wasser:	Zuerst Quellung der Volutanskugeln, dann intensive Blauschwarzfärbung. Nachträgliche Einwirkung 1 proz. H_2SO_4 entfärbt nur das Zytoplasma, während die Kugeln dunkelblau bleiben.
Karbolfuchsinlösung:	Zytoplasma und Volutin gleich rot gefärbt. Nachherige Behandlung mit 1 proz. H_2SO_4 bewirkt Entfärbung des Plasmas. Die Kugeln bleiben rot gefärbt.
Methylviolett:	Färbung der Volutanskugeln.
Bismarckbraun:	„ „ Kugeln.
Safranin:	„ des Volutins.
Hämatoxylin Delafield:	Langsame Färbung der Kugeln.
Eosin:	Keine Färbung.
Boraxkarmin:	„ „
Schwache Lösung vor Jod in Jodkalium:	Volutin und Plasma gleich hellgelb gefärbt.
Sehr konzentrierte Lösung von Jod in Jodkalium:	Volutanskugeln bei tiefer Einstellung im Mikroskop hellgelb, bei hoher dunkelgelb gefärbt.

Durch Härtungsmittel ändert sich die Löslichkeit in einigen Lösungsmitteln. So vermindert eine Behandlung mit Formaldehyd die Löslichkeit in Soda, mit Alkohol die in 80grädigem Wasser und Osmiumsäure die in Kalilauge.

Die Verdauungsenzyme Trypsin und Pepsin zeigen dem Volutin gegenüber dieselbe Wirkung wie Wasser.

Nach A. Meyer soll es sich beim Volutin um einen „eiweißartigen Körper im weitesten Sinne" handeln.

Ein weitverbreiteter, stickstoffreier Zelleinschluß ist das

Glykogen.

Dasselbe findet sich im Plasma in Form von stärker lichtbrechenden Kugeln und Schollen, die von zähflüssiger Konsistenz sind. Es läßt sich das Glykogen in den Zellen sehr leicht mit verdünnten Jodjodkaliumlösungen nachweisen, da es dabei eine rein braune Farbe hat. Man kann dasselbe durch kurzes Kochen in einer sehr verdünnten wässerigen Schwefelsäurelösung leicht aus den Bakterien entfernen, ebenso durch Behandeln mit einem Malzauszuge bei 28—30° C. In mit Anilinfarben gefärbten Bakterien erscheinen die Glykogenschollen heller als das umgebende Plasma.

Ein zweiter, ebenfalls stickstoffreier Reservestoff ist das

Iogen

A. Meyer's oder die Granulose, welche im Reiche der Bakterien viel seltener zu finden ist, als die beiden früher genannten Reservestoffe. Das Iogen unterscheidet sich von dem Glykogen dadurch, daß es in sehr verdünnten Jodjodkaliumlösungen eine blaue Farbe annimmt. Morphologisch ergibt sich kein Unterschied.

Im Anschluß an die genannten Kohlehydrate sei noch das Amylin als Reservestoff der Beggiatoa mirabilis, der großen Schwefelbakterie, angeführt. Dasselbe fand Hinze in Form kleiner Körnchen, die sich auf Zusatz von konzentrierter Jodjodkaliumlösung blau färbten.

Sehr häufig enthalten die Bakterien, mitunter in großen Mengen, geformtes

Fett.

Dasselbe findet sich in den Zellen in Form kleiner oder größerer Tröpfchen, die außerordentlich stark lichtbrechend sind und bei schwachen Färbungen mit wässerigen Anilinfarblösungen ungefärbt bleiben oder sich nur sehr wenig färben.

Eine größere physiologische Gruppe von Bakterien, die „Schwefelbakterien" haben dann, wenn ihnen Schwefelwasserstoff im Nährsubstrat zur Verfügung steht.

Schwefeleinschlüsse.

Dieselben erscheinen als sehr stark lichtbrechende Kügelchen, deren Durchmesser zwischen Bruchteilen eines Mikrons und mehreren Mikren schwankt. Sie bleiben stets ungefärbt und sind in sehr wechselnder Zahl in der Zelle vorhanden. Es handelt sich hier um eine eigenartige Schwefelmodifikation, die niemals kristallisiert und eine halbweiche, teigige Beschaffenheit aufweist. Die Schwefeleinschlüsse sind in allen schwefellösenden Reagentien löslich.

Im Anschlusse an die bisher genannten geformten Zellbestandteile soll noch einer Bildung gedacht werden, die Molisch bei den Purpurbakterien, Rhodocapsa suspensa und Rhodothece pendens fand und die mit der Schwebefähigkeit dieser Bakterien in flüssigen Substraten in ursächlichem Zusammenhang steht. Molisch nannte deshalb diese Bildungen „Schwebekörperchen" oder „Airosomen". Dieselben finden sich in den genannten Purpurbakterien sehr zahlreich der ganzen Länge nach angeordnet, so daß der Zelleib wie zerklüftet oder gekammert aussieht. Die Airosomen sind stark lichtbrechend und erscheinen bei Beobachtung im durchfallenden Licht in rötlicher Farbe. Im auffallenden Licht sind sie dagegen weiß. Sobald auf die Zellen ein Druck ausgeübt wird, verschwinden sie und zugleich verliert die Zelle die Fähigkeit, in der Flüssigkeit zu schweben. Nach den eingehenden Untersuchungen von Molisch handelt es sich dabei nicht um Gasvakuolen, die ebenfalls bei Bakterien zwar beschrieben worden sind, ohne aber wahrscheinlich vorhanden zu sein.

Das Plasma samt seinen Einschlüssen ist nun von einer **Zellhaut** oder **Membran** allseits umgeben, ohne daß es zu einem festeren Zusammenhang zwischen der Innenseite der Zellhaut und den oberflächlichen Protoplasmateilen kommt.

Im allgemeinen ist die Zellhaut junger, eben geteilter Bakterien sehr dünn, die älterer Individuen etwas dicker. Man kann sie etwa auf ein Fünfzigstel der Zelldicke schätzen. An ihr sind keine feineren Strukturen zu bemerken. Bei besonders großen Bakterienarten fällt sie ohne besondere Präparation schon im lebenden Zustande der Zellen durch ihr großes Lichtbrechungsvermögen auf. Sie läßt sich auch bei den meisten kleinen Bakterienarten dadurch darstellen, daß man den Zellinhalt zur Zusammenziehung oder Schrumpfung bringt. Dazu kann man starke Essigsäure oder Jodlösungen in Jodkalium verwenden. Auch in alten Kulturen kann man an abgestorbenen Zellen nach spontaner Selbstverdauung des Zellkörpers sehr oft an solchen leeren Zellen die Haut mit großer Deutlichkeit sehen. Das gleiche gilt für Fälle, in denen der Protoplast infolge äußerer Einflüsse

seine Hülle vollständig oder teilweise verläßt. In der Figur 13 sind einige Zellhautbilder zusammengestellt, wie sie beim Spirillum volutans zur Beobachtung gelangen. In *A* sind 6 Zellen dieses Spirillums dargestellt, die mit starker Essigsäure und nachher zur Sichtbarmachung des geschrumpften Protoplasten (*a*) mit Jod-Jodkalium behandelt worden waren. Überall sieht man die feine Zellhaut (*b*), die bei *d* wie zusammengefallen erscheint. Sie liegt überhaupt selten glatt, wie ausgespannt, sondern weist kleinste Längsfalten auf, wie es durch die Längslinien angedeutet ist, die aber in der Zeichnung noch verhältnismäßig zu grob ausgefallen sind. In *B* sehen wir optische Schnitte leerer Zellhäute, aus denen der Protoplast bereits ausgetreten ist. *C* gibt uns endlich eine Zelle wieder, in der der Plasmakörper gerade auszutreten beginnt.

Bei den Kugelbakterien und auch bei den Stäbchenbakterien scheint bei den normalen vegetativen Wuchsformen die Zellhaut allseits gleich dick zu sein. Die großen Spirillen und wahrscheinlich auch die kleinen Schraubenbakterien machen eine Ausnahme, indem bei ihnen die Membran nicht allseitig dieselbe Dicke aufweist. Am Spirillum volutans kann man beobachten, daß die Zellhaut in den Konkavitäten des Zellkörpers etwa doppelt so dick ist als in ihren übrigen Teilen. Es scheint dieses Verhalten die Schraubenform zu erklären. Wenn wir einen Kautschukschlauch nehmen, der in einer Spirallinie eine Wandverdickung aufweist, ihn an einem Ende verschließen und dann Wasser einpressen, so nimmt er augenblicklich die Schraubenform an. Der Innendruck der Zelle, der ja auch sehr beträchtlich ist, besorgt bei den Schraubenbakterien dasselbe. In der Tat beobachtet man an Spirillum volutans die Erscheinung, daß sich ab und zu in der Ruhe eine Zelle völlig streckt, um mit einem Ruck wieder in die Spirillenform zurückzukehren. Daraus geht auch hervor, daß die Zellhaut wenigstens bei den großen Spirillen sicherlich einen bedeutenden Grad von Elastizität besitzt. Das dürfte übrigens auch bei den übrigen Bakterien der Fall sein.

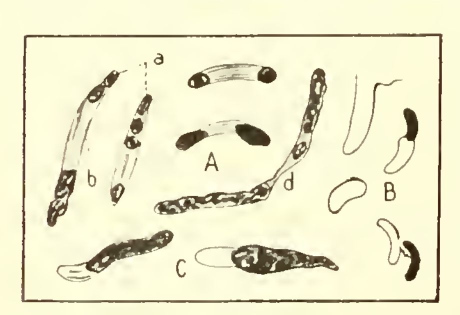


Fig. 13.

Nach Innen zu ist die Zellhaut stets scharf begrenzt, während sie gegen das umgebende Medium zu häufig etwas verwaschenere Konturen aufweist. Bei dem hohen Wassergehalt, den die Bakterien in allen Nährmitteln fordern, ist es nicht verwunderlich, wenn eine Aufquellung der äußeren Membranteile eintritt, wodurch die Unschärfe der äußeren Zellkonturen bei der Betrachtung im lebenden Zustande vollauf ihre Erklärung findet. Daß hier ein besonderes Außenplasma oder Ektoplasma vorliegt, wie es jetzt zahlreiche Forscher annehmen, ist durchaus nicht erwiesen, ja nicht einmal wahrscheinlich.

Wenn es zu einer stärkeren Quellung und Verschleimung der äußeren Membranpartien kommt, so verkleben die Zellen nach der Teilung und so entstehen eine Reihe von Wuchsverbandformen, die später behandelt werden sollen.

Zahlreiche Bakterien zeigen die Eigentümlichkeit, unter besonderen Ernährungsbedingungen sehr dicke Zellwände auszubilden, die sehr stark verquellen und mitunter als mächtige Gallerte um die Zellen herum liegen.

Wir bezeichnen solche Membranbildungen als Kapseln. Sie werden immer nur unter besonderen Ernährungsbedingungen ausgebildet. Letztere sind wieder für die einzelnen Arten wesentlich verschieden. Gegen das umgebende Nährsubstrat sind die Kapseln noch ziemlich scharf abgegrenzt. Diese Gallerthüllen können entweder gleichmäßig nach allen Seiten um die Zelle herum abgeschieden werden oder vorwiegend nach einer Richtung, wodurch eigenartige Bildungen zustande kommen, die in folgender Figur 14 wiedergegeben sind. In *1* sieht man um die Zellen von Micrococcus tetragenus homogene Höfe, die in ziemlich regelmäßiger Weise dieselben allseits umschließen. Die punktierte Zwischenmasse entspricht den Niederschlägen des aufgetrockneten und mitgefärbten Nährsubstrates. *2* der Figur 14 gibt uns ein Bild vom Streptococcus mesenterioides, auch Froschlaichbazillus genannt, einer Kugelbakterie, die beim Wachstum in zuckerreichen Nährsubstraten kolossale Gallerthüllen ausbildet, die in der Zeichnung hellgrau angedeutet sind. Auch hier wird die Kapsel gleichmäßig um die Zelle herum ausgeschieden. *2a* zeigt uns die Bakterie ohne Kapsel, wie sie in zuckerfreien Nährböden wächst. In *3* der Figur 14 gewahren wir eine Abbildung der von Famintzin untersuchten Newskia ramosa (nach einer Zeichnung von Migula in Lafars Handbuch der technischen Mykologie, Band I, 2. Kapitel). Die kleinen kugeligen Bakterien bilden hauptsächlich nach einer Seite Gallerte, so daß ein ganzer Gallertstock entsteht, an dessen Astspitzen sozusagen die Bakterien sitzen. In *4* dieser Figur ist eine Kette von 4 Anthraxbakterien (schwarz) mit ihren verhältnismäßig zarten Kapseln (grau) abgebildet. Um diese Stäbchenbakterie wird die Kapsel ebenfalls gleichmäßig dick ausgebildet. Anders verhält sich die Kapsel des sogenannten Bacterium vermiforme, von dem ein Zellfaden in *5* der Figur 14 zur Darstellung gebracht ist (ebenfalls nach Migula in Lafars Handbuch gezeichnet). Diese Bakterienart, die sich im englischen Sommerbier „Gingerbeer plant“ findet, bildet in älteren Entwicklungszuständen die Gallertmassen in Form einseitig an-

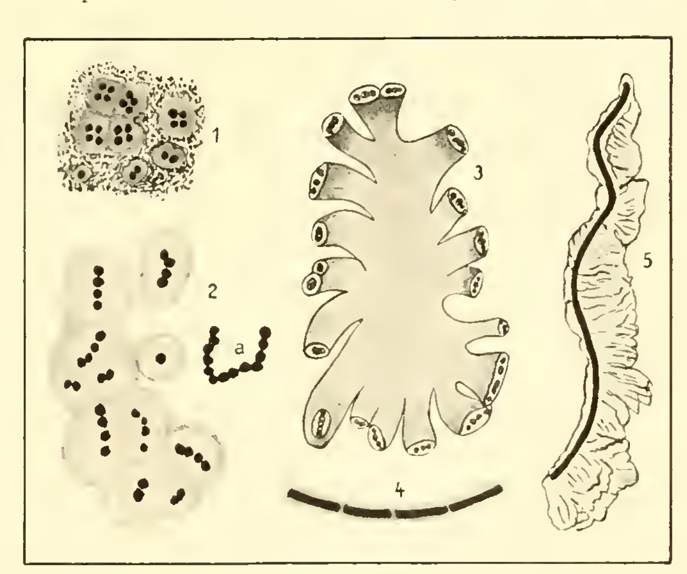


Fig. 14.

sitzender, vielfach gelappter Anhängsel wie es die Abbildung zeigt. Um die jüngern Zellen herum ist die Kapsel gleichmäßig ausgebildet.

Im Anschluß an die sogenannten Gallertbildungen müssen die **Scheiden** der Fadenbakterien erwähnt werden. Es gibt zahlreiche Bakterien, die dadurch charakterisiert sind, daß ihre vegetativen Zellen eine mehr oder minder dicke Scheide ausbilden, in der weiterhin die Vermehrung statthat. Die Scheiden erhärten in der Folge meist derart, daß sie selbst nach dem Tode der innewohnenden Zellen noch lange Zeit hindurch erhalten bleiben. Vielfach behalten sie aber auch eine weiche Beschaffenheit bei. In ihnen wird bei vielen Arten Eisen als Eisenoxydhydrat gespeichert, so daß sie eine braunrote Farbe erhalten. Man vereint alle Fadenbakterien, in deren Scheiden Eisen aufgesammelt wird, in der physiologischen Gruppe „Eisenbakterien".

Wir sehen in der Abbildung 15 Fäden von drei Eisenbakterien (Molisch) abgebildet. Cladothrix dichotoma bildet meistens eine dünne Scheide aus, die aber aus einer dichten, wasserwarmen und mehr festen Gallerte besteht und den Zellfaden wie eine Röhre umschließt. Ähnliches sehen wir auch bei Clonothrix ferruginea und Chlamydothrix ochracea, die ebenfalls als Beispiele für Scheidenbildungen in Figur 15 wiedergegeben sind. Dort, wo die Zellen anliegen, erweist sich die Scheide als weicher, sodaß eine Verschiebung der Bakterien in den Scheiden leicht zustande kommt. In diesen Scheiden müssen wir Ablagerungen erblicken, die durch die Tätigkeit der Zellen selbst gebildet werden.

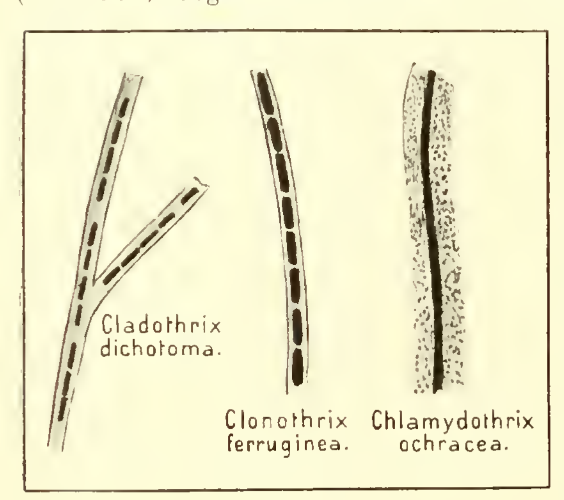


Fig. 15.

Jedenfalls werden Kapsel- und Scheidenbildungen nicht als besondere Abwehr- und Schutzvorkehrungen des Organismus zu betrachten sein, da gegen eine solche Auffassung eine große Menge von Erscheinungen bei der Kapselbildung spricht. Es geht überhaupt nicht an, in allen Einrichtungen und Lebensäußerungen eines Organismus nur zweckmäßiges zu sehen und solches hineinzulegen. Der den Organismen innewohnende Gestaltungstrieb äußert sich in der Bildung mannigfacher Einrichtungen unabhängig von einem besonderen Nutzen oder Schaden derselben für die Zelle.

Im Anschluß an die bereits genannten, geformten Zellbestandteile der vegetativen Bakterienzelle müssen noch diejenigen Einrichtungen besprochen werden, welche der Eigenbewegung von Mikroorganismen dienlich sind. Bei der Untersuchung von Bakterien im hängenden Tröpfchen gewahrt man zahlreiche Arten, die mit mehr oder minder großer Geschwindigkeit unter Beschreibung verschiedener Bewegungsbahnen aktive Ortsveränderungen vollführen. In allen Fällen mit wenigen Ausnahmen,

die Schwefelbakterien betreffen, werden diese Bewegungen der Bakterien durch besondere Organellen ausgeführt, die man als

Bakteriengeißeln

bezeichnet. Man spricht auch von Geißelfäden, die in verschiedener Anzahl und Anordnung sich an der Zelle finden. Die Fädchen sind so zart, daß sie an dem lebenden Objekt während der Bewegung wenigstens bei allen kleinen Bakterien unsichtbar bleiben. Nur an den großen Schraubenbakterien sieht man sie ab und zu gleichsam aufblitzen, wenn sie sich zu einem Bündel zusammengelegt haben. Mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung gelingt es aber leicht, auch an den meisten kleineren Bakterien die Geißeln in der Bewegung zu beobachten. Allerdings sieht man in diesem Falle nicht die einzelnen Geißelfäden, sondern einen dickeren Geißelstrang. Auch im Dunkelfeld kann man die einzelnen Geißelfäden nur an den großen Spirillen unmittelbar sehen Nach den interessanten Untersuchungen Reicherts über die Sichtbarmachung der Geißeln überhaupt und besonders mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung ergeben sich gewisse Fundamentalgesetze, die die Natur dieser Gebilde ebenfalls näher beleuchten. Bei der Sichtbarmachung der Geißeln sind darnach die osmotischen und optischen Verhältnisse des Aufschwemmungsmittels vollständig bedeutungslos, während dafür die chemischen Eigenschaften desselben ausschlaggebend sind. Im allgemeinen befördern die Salze und Säuren die Sichtbarmachung, während dazu die starken Basen überhaupt unbrauchbar sind. Die Nichtelektrolyten erweisen sich in der Regel als nur wenig wirksam. In Kolloiden, Gummi, Leim usw. sind besonders die Bazillengeißeln gut darstellbar. Die Wirkung der hier in Frage kommenden Elektrolyten, Schwefelsäure, Salzsäure usw. und deren Salze folgt dabei ähnlichen Gesetzen, wie sie für die Ausfällung von Hydrosolen und Suspensionen durch Elektrolyte gefunden worden sind. Bekanntlich verlaufen dieselben immer mit einer Adsorption, was auch hier für die Sichtbarmachung von ausschlaggebender Bedeutung sein dürfte.

Auch das Zusammenlagern der Einzelgeißeln in Geißelzöpfen während der Bewegung fördert sehr die Möglichkeit des Sichtbarwerdens, da selbst beim Vorhandensein zartester Geißelfäden die Geißelpakete immer noch Dimensionen annehmen, die mikroskopisch gesehen werden können, wenn auch die einzelne Faser submikroskopische Abmessungen aufweist. Beim Tode der Bakterien lösen sich die Geißelzöpfe nur in elektrolytfreien Medien wieder in die Einzelgeißeln auf, während bei der Anwesenheit von Elektrolyten eine Entfaltung nicht verfolgt. Die Zopfbildung ist besonders in zähflüssigen Substraten gut ausgebildet, weshalb bei der Darstellung der Geißeln im Dunkelfeld die kleinen Bakterien in Flüssigkeiten, wie beispielsweise 1proz. Gelatinelösung, aufgeschwemmt werden müssen.

An getöteten Bakterien werden die Geißeln durch besondere färberische Verfahren zur Ansicht gebracht, wobei aber auch bei der Vorbehandlung der Präparate nach den eben gegebenen Andeutungen zu verfahren ist. Dann ist noch zu bedenken, daß die Geißeln in allen gefärbten Präparaten sehr verdickt erscheinen. Die Form der Geißeln ist auch in solchen Präparaten von getöteten Zellen mitunter wesentlich anders als im lebenden Zustande.

Ganz allgemein kann man die Geißeln als feine, fädige Protoplasmaanhänge von verschiedener Länge und Dicke definieren. In Bezug auf die Länge und Dicke herrscht bei den einzelnen Arten eine gewisse Konstanz insofern, als man Durchschnittszahlen zugrunde legt. Bei den Bakterienarten mit mehreren Geißelfäden sind diese untereinander keineswegs gleich, sondern weisen hauptsächlich bezüglich der Länge Differenzen auf. Es scheinen die jüngsten Geißelfäden die kürzesten zu sein. Die Dicke der Geißeln ist bei den verschiedenen Bakterienarten ebenfalls verschieden und ziemlich unabhängig von der Größe der Bakterienart. Im allgemeinen besitzen diejenigen Bakterien-

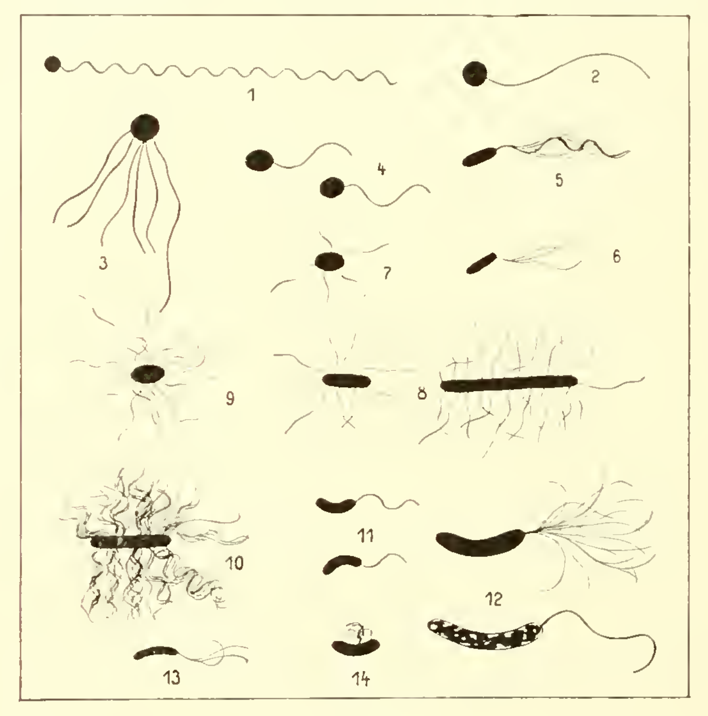


Fig. 16.

arten dünnere Geißelfäden, die Geißeln in größerer Anzahl aufweisen. Die absolute Dicke der Geißeln weist Abmessungen auf, die weit unter Zehnteln eines Mikrons liegen. So messen die einzelnen Geißelfäden von Spirillum volutans 0,02—0,05 μ in der Dicke.

Die Ansatzstellen der Geißeln an den Bakterienzellen zeigen nun eine Gesetzmäßigkeit. Wenn nur ein Geißelfaden ausgebildet wird, dann sitzt derselbe bei den Stäbchenbakterien immer an einem Pole der Zelle. Bei den Kugelbakterien kann natürlich von einer polaren Begeißelung nicht gesprochen werden. Man bezeichnet nun alle Bakterienarten, die nur eine Geißel in der Regel ausbilden, als monotrich begeißelt. Man findet solche sowohl bei den Kugel-, als auch bei den Stäbchen- und Schraubenbakterien. In der Figur 16 sehen wir in *1* und *2* monotrich begeißelte Kugelbakterien abgebildet; *1* entspricht einer Nitroso-

monas (Nitritkugelbakterie) aus javanischer Erde mit kolossal lang ausgebildeter Geißel (nach Winogradsky) und *2* dem Micrococcus grossus nach Ellis. In *4* sehen wir als Beispiel einer monotrich begeißelten Stäbchenbakterie den Nitritbazillus aus Züricher Erde, ebenfalls nach Winogradsky. Hier sitzt die Geißel an einem Pole des eiförmigen Bakteriums. Endlich in *11* dieser Figur ist als Beispiel für ein monotrich begeißeltes Spirillum der Vibrio der asiatischen Cholera abgebildet, der in der Regel auch nur eine Geißel an einem Pole trägt.

Wenn Bakterienarten mehrere Geißeln besitzen, dann sind bezüglich der Verteilung derselben am Zellkörper zwei Fälle zu beobachten. Entweder gehen sämtliche Geißeln von einem Punkte der Zelle aus oder die Geißeln sind über den ganzen Körper mehr oder minder gleichmäßig verteilt. Im ersteren Falle, der nur bei Stäbchen- und Schraubenbakterien zur Beobachtung gelangt, spricht man von büscheliger oder lophotricher Begeißelung, in letzterem von peritricher Begeißelung.

Manche lophotrich begeißelten Bakterienarten besitzen Büscheln von nur wenigen Einzelgeißeln, wieder andere dagegen von sehr vielen. Das Geißelbüschel sitzt in der Regel an einem Zellpole also terminal. Eine Ausnahme davon finden wir bei einer gekrümmten Bakterie, die sich fast immer im Zahnbelag des Menschen findet. Sie ist mit ihrem Geißelbüschel, das in der Konkavität des Zellkörpers zu entspringen scheint, in *14* der Figur 16 abgebildet. Häufig findet man noch bei monotrich und lophotrich begeißelten Stäbchen- und Schraubenbakterien die Bezeichnung amphitrich, worunter eine Begeißelung an beiden Polen der Zelle gemeint ist. Die junge oder ältere ruhende Zelle trägt, sofern sie überhaupt lophotrich begeißelt ist, immer nur das Büschel an einem einzigen Pole. Erst während der Teilung wird am zweiten Pole ein zweites Büschel ausgebildet, so daß in jüngeren Teilungsstadien eine doppelpolige Begeißelung vorgetäuscht wird.

Außer der bereits erwähnten Abbildung 14 der Figur 16 zeigen uns noch *5*, *6*, *12* und *13* lophotrich begeißelte Stäbchen- und Schraubenbakterien. *5* entspricht der Pseudomonas cerevisiae mit einem aus vielen Fäden bestehenden Geißelbüschel, *6* der Pseudomonas dermatogenes mit nur 3—4 endständigen Geißeln. *12* zeigt oben eine Zelle von Spirillum volutans mit einem entfalteten Geißelbüschel von 19 Einzelfäden und unten mit nur einem dicken Geißelzopf, entstanden aus den früher genannten Einzelgeißeln. In *13* dieser Figur sehen wir eine Zelle einer fluoreszierenden Schraubenbakterie mit einem Büschel von 4 Geißelfäden abgebildet. An den zu Zöpfen vereinten Einzelgeißeln erscheint das Ende derselben oft aufgefasert. Diese Auffaserung trifft aber niemals den einzelnen Geißelfaden, der stets in seiner ganzen Länge gleichmäßig dick und ungeteilt ist. Das gilt ausnahmlos für alle Bakteriengeißeln.

Eine peritriche Begeißelung findet sich nur bei Kugel- und Stäbchenbakterien. Die Anzahl der um den Körper angeordneten Geißeln bei den einzelnen Bakterienarten ist sehr verschieden, aber für die Individuen einer Art innerhalb gewisser Grenzen konstant. In den Figuren *3* und *7* bis *10* der Abbildung 16 sind peritrich begeißelte Bakterien wiedergegeben. *3* entspricht der Sarcina aurescens, einer Kugelbakterie, die 6 lange Geißelfäden trägt (nach Ellis). In *7* ist der

Bacillus coli, ein Darmbewohner, mit 5 Geißeln wiedergegeben. *8* zeigt uns links eine einzelne Zelle und rechts einen Zellfaden von Bacillus subtilis, dem weitverbreiteten Heubazillus. Er besitzt schon mehr Geißeln als die vorgenannte Art. Gewöhnlich noch mehr Geißeln weist der Erreger des Unterleibstyphus, der Bacillus typhi auf, der hier mit 14 Geißeln abgebildet ist. Noch viel mehr Geißeln besitzt der Starrkrampfbazillus, Bacillus tetani, den uns *10* vorführt. Die einzelnen, sehr feinen und langen Geißeln, die in sehr großer Zahl vorhanden sind, zeigen die Neigung zu Zopfbildungen.

Solange man nur auf die Untersuchung der Geißeln im gefärbten Zustande an der toten Zelle angewiesen war, konnte man sich allerdings eine Vorstellung von der Zahl und Verteilung der Geißeln machen, nicht aber vom feineren Bau und dem Zusammenhang derselben mit der Zelle. Erst durch die Anwendung der Beobachtung im Dunkelfelde, wo diese feinen Gebilde selbstleuchtend werden, wird es möglich, auch in die letztgenannten Verhältnisse einen Einblick zu gewinnen. Nur so können wir die Form der lebenden Geißel studieren, denn die zur Darstellung derselben angewendeten Elektrolytlösungen sind so verdünnt, daß sie die Zelle nicht mehr schädigen.

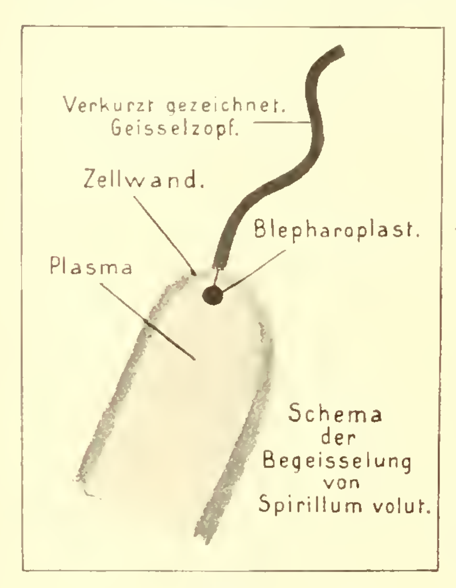


Fig. 17.

Unter diesen Verhältnissen untersucht, zeigt es sich, daß die Form der Geißeln verschieden ist nach dem Bewegungszustande. Während der Bewegung legen sich die Einzelgeißeln zu einem Geißelzopf zusammen, den wir kurzweg primären Geißelkopf nennen wollen. Derselbe weist eine bestimmte Krümmung auf, die natürlich auch den Einzelgeißeln zukommt. Dieselben sind im primären Geißelzopf auch keineswegs verflochten, sondern nur aneinander gelagert. Beim Aufhören der Bewegung entfaltet sich der Geißelzopf in der Regel und die Geißeln nehmen die „Ruheform“ an. Diese Formenveränderungen beweisen zugleich eine gewisse Weichheit und Schmiegsamkeit der Geißelfäden. Beim plötzlichen Abtöten der Zellen erhält man meist die „Bewegungsform“, da zur Entfaltung keine Zeit ist. Bei der langsamen Einwirkung verdünnter Morphiumlösungen oder Jodlösungen findet eine Streckung der Geißeln statt.

In der vollen Bewegung weisen alle Geißeln Schraubenformen auf, die rechtsgewunden sind. Bei den einzelnen Arten besitzen die Windungshöhen und -Durchmesser verschiedene Größe. Aus der Gestalt der in Bewegung befindlichen Geißelzöpfe kann man auf diejenige der Einzelgeißeln schließen. Beim Absterben werden die Schraubenwindungen gewöhnlich flacher oder die Geißeln strecken sich vollends. Bei der Be-

wegungseinstellung kann man entweder ein Flacherwerden oder mitunter auch ein Steilerwerden der Geißelwindungen beobachten.

Eine feinere Struktur der Einzelgeißeln ist bei den kleinen Bakterien nicht nachweisbar. Werden die Bakterien in sauren Salzlösungen oder in sehr verdünnten Säuren aufgeschwemmt, so sieht man Körnchen längs des Geißelfadens auftreten, während die Geißel kürzer wird. Man kann die Erscheinung mit einem Zusammenschmelzen der Geißelsubstanz vergleichen. Auch an den Geißeln der großen Spirillen ist an dem freien, von der Zelle abstehenden Geißelteil keine Struktur zu beobachten.

An diesen Formen gelingt es aber, den Zusammenhang zwischen der Geißel und dem Zellinneren zu beobachten. Ein ausgezeichnetes Objekt dafür ist das Spirillum volutans. Hier kann man schon nach einfacher Jodbehandlung sehr deutlich in vielen Fällen unmittelbar einen feinen Verbindungsfaden zwischen den außen befindlichen Geißeln und dem Zellinnern wahrnehmen, wie es schematisch in Figur 17 abgebildet ist. Innen mündet dieser Faden in ein kleines Knöpfchen, das aus chromatischer Substanz zu bestehen scheint, wie die färberischen Erscheinungen desselben zeigen. Wir haben hier also eine ähnliche Bildung, wie sie andere zilientragende Zellen als Bewegungszentrum aufweisen und die man als Blepharoplast bezeichnet.

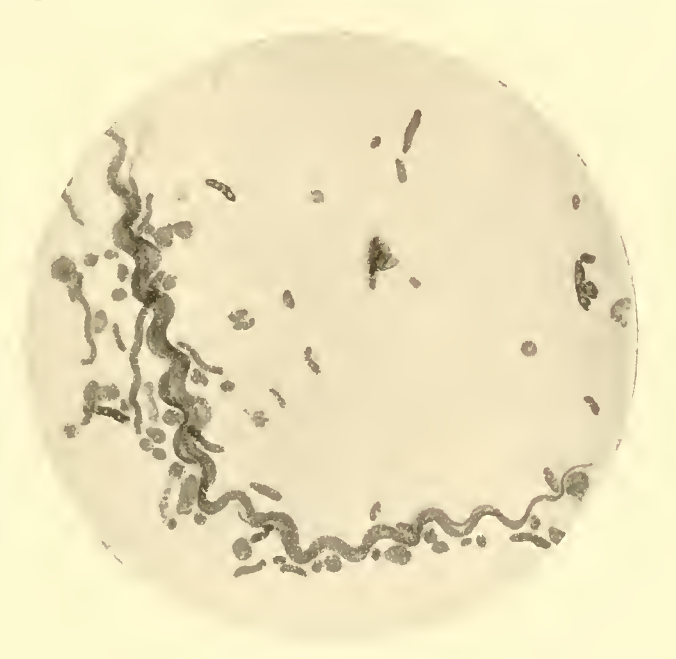


Fig. 18.

Wenn diese Beobachtungen an Spirillum volutans auch nicht ohne weiteres auf alle geißeltragenden Bakterien verallgemeinert werden dürfen, so ist es doch sehr wahrscheinlich, daß der Geißelapparat auch bei allen anderen Arten im wesentlichen ähnlich oder gleich ausgebildet ist.

Schon lange ist die Erscheinung bekannt, daß besonders in älteren, aber auch in ganz jungen Kulturen sich neben den geißeltragenden Bakterien freie Geißelzöpfe vorfinden, die mitunter ganz ungeheuerliche Ausdehnungen annehmen. In Figur 18 ist ein solcher Geißelzopf bei 1000facher Vergrößerung photographiert. Wir können zur Stunde die näheren Bedingungen noch nicht genügend, die ein Abreißen und Zusammentreten der Geißeln zu solchen „sekundären Zöpfen" veranlassen. Jedenfalls müssen äußere Bedingungen die Oberfläche der einzelnen Geißelfäden in der Weise verändern, daß sie eine etwas klebrige Beschaffenheit bekommen, dann von

mehreren und vielen Individuen aneinander haften bleiben und durch die Bewegung der Bakterien ineinander verflochten werden. Beim vorüberschwimmen der einzelnen Bakterien können unter den eben genannten Bedingungen einzelne Geißeln derselben verkleben und durch das auseinanderzerren und ziehen zusammengedreht werden. Schließlich reißen die gefangenen Geißeln ab und die Zelle schwimmt mit den noch frei übrig bleibenden Geißeln davon. Man sieht ja häufig an solchen Zöpfen verfangene Zellen, wie es in Figur 18a an Spirillum volutans wiedergegeben ist, das durch Morphinisierung künstlich zur Bildung „sekundärer Zöpfe" gereizt worden ist. Hier sieht man auch, daß die im Zopf vereinten Geißeln schon eine stark gequollene Beschaffenheit aufweisen.



Fig. 18a.

Die Geißeln haften übrigens sehr fest an der Bakterienzelle und halten einen recht beträchtlichen Zug aus, ohne abzureißen, wie es aus Beobachtungen an lebendem Materiale hervorgeht. Da sieht man häufig mit der Geißel hängengebliebene Zellen sehr heftig zerren, ohne daß es zu einem Abreißen kommt.

Literatur zur Vorlesung II und III.

Gaidukow, N., Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie. Jena 1910.

Hansen, E. Chr., Gesammelte, theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen. Herausgegeben von A. Klöcker. Jena 1911.

Pavillard, J., État actuel de la Protistologie végétale. Progressus rei botanicae, Bd. 3, S. 474, 1910. Hier reiche Literatur über Struktur der Bakterien.

Migula, W., Allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Schizomyceten. Lafar's Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 1, S. 29.

Meyer, A., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903.

Molisch, H., Zwei neue Purpurbakterien mit Schwebekörperchen. Botanische Zeitung, I. Abt., Bd. 64, S. 223, 1906.

Ders., Die Eisenbakterien. Jena 1910.

Fuhrmann, F., Die Geißeln von Spirillum vollutans. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 25, S. 129, 1910.

Reichert, Über die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 51. S. 65, 1909.

VIERTE VORLESUNG.

Teilung, Vermehrung und Bildung von Dauerformen bei Bakterien.

Im allgemeinen erfolgt die Teilung bei den Bakterien durch Spaltung, das heißt durch Einfügung einer Querwand. Diesem Verhalten entsprechend bezeichnet man alle Bakterien auch als Spaltpilze oder Schizomyceten. Bei allen Stäbchen- und Schraubenbakterien steht diese Teilungswand senkrecht auf der Wachstumsrichtung oder Achse dieser Organismen.

Die Teilung vollzieht sich entweder nach einer in bestimmter Weise eingetretenen Formveränderung der Zelle oder wie bei vielen Kugelbakterien ohne jede voraufgehende Änderung der Gestalt. Bei allen Teilungen der vegetativen Bakterienzelle ist der Vorgang der Ausbildung der Teilungswand im Prinzip gleich. Der ganze Verlauf der Teilung von Stäbchen- und Schraubenbakterien spielt sich im allgemeinen etwa folgendermaßen ab. Die sich zur Teilung anschickende Zelle verlängert sich durch gleichmäßiges Wachstum nach beiden Richtungen der Längsachse etwa um ein Drittel oder bis auf die doppelte Länge. Während dieser Verlängerung haben sich ungefähr in der Zellmitte zwei kleine, körnige exzentrisch gelegene Gebilde herausdifferenziert, die in unmittelbarer Beziehung zur Membranbildung stehen. Meistens erscheinen dieselben durch einen feinen Faden verbunden. Sie dürften übrigens durch Teilung aus einem Korn hervorgegangen sein, da in vielen Fällen nur ein Korn zu beobachten ist, von dem ein feiner Ausläufer zur Wandanlage geht. Dann bildet sich die Querwand aus, die bei der nun folgenden Lostrennung der Tochterzellen in zwei Teile gespalten wird, womit die Teilung des Stäbchens beendet erscheint. In der Figur 19 sind die Teilungsverhältnisse von Stäbchen- und Schraubenbakterien schematisch wiedergegeben, wie sie nach den verschiedenen Beobachtungen von Růžička, Guilliermond und anderen zu herrschen scheinen. Unter sehr günstigen Ernährungsbedingungen, die eine sehr rasche Aufeinanderfolge der Teilungen zur Folge haben, entstehen die Querwände für die Teilungen der Tochterzellen, bevor diese voll ausgebildet sind und die normale Größe erreicht haben. So müssen wir uns übrigens die verkürzten Teilungsprodukte bei forzierter Teilung entstanden denken.

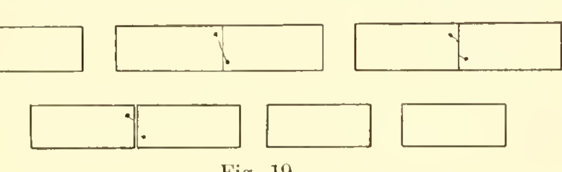


Fig. 19.

Bei den Kugelbakterien geht die Teilungsebene immer durch den Mittelpunkt der Zelle. Im übrigen findet die Wandbildung nach dem oben beschriebenen Modus statt. Die nach der Teilung frei werdenden Tochterzellen nehmen alsbald die Kugelgestalt an und wachsen zur normalen Größe heran. Hier herrscht in bezug auf die Lage der Teilungsebene in den aufeinanderfolgenden Teilungen bei den verschiedenen Arten eine Gesetzmäßigkeit, durch die das Auftreten von ganz bestimmten Wuchsverbänden bedingt wird, sofern durch Verquellung der Zellwände die Teilungsprodukte an einander längere Zeit haften bleiben. Diese Wuchsverbände sind bis zu einem gewissen Grade als artcharakteristische Merkmale aufzufassen und werden auch bei der Aufstellung der Bakteriensysteme meist verwertet.

Da durch den Kugelmittelpunkt unzählig viele Ebenen gelegt werden können, so wird bei den Kugelbakterien die Möglichkeit vorhanden sein, daß sich die einzelnen Zellen nach Ebenen teilen, die eine beliebige Richtung im Raume besitzen. Wechseln diese Richtungen bei allen folgenden Teilungen und bleiben die Tochterzellen aneinander haften, so müssen unregelmäßige Wuchsverbände entstehen, die mit Trauben gut zu vergleichen sind. Man bezeichnet dementsprechend auch alle jene Kugelbakterien, die sich nach dem genannten Typus teilen, als Traubenkugelbakterien, Traubenkokken oder Staphylokokken.

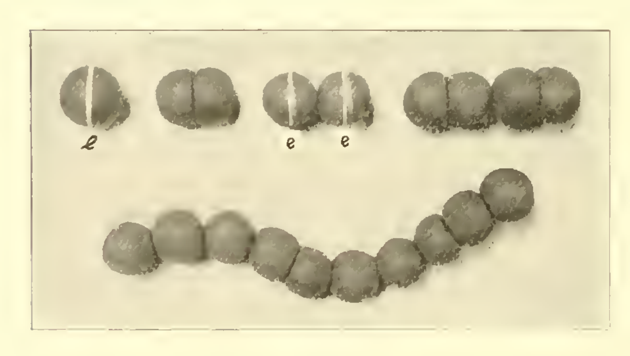


Fig. 20.

Wesentlich anders sind die Wuchsverbände geartet, wenn die Bakterien bei allen Teilungen von Ebenen durchschnitten werden, die zueinander parallel stehen. Wenn dann durch Verklebung der Zellen Wuchsverbände entstehen, müssen diese eine reihenartige Anordnung der Glieder aufweisen. Man bezeichnet solche Wuchsverbände als Kugelketten und alle Bakterien, die sich in diesem Sinne teilen, als Kettenkugelbakterien oder Streptokokken. In Figur 20 ist das Photogramm eines Modelles solcher Bakterien abgebildet. Wir sehen ganz links eine einzelne Kugelbakterie, an der die mit *e* bezeichnete weiße Linie die Teilungsebene markiert. Nach der Teilung entstehen 2 Tochterzellen, an denen wieder durch die weißen Linien *e* die Teilungsebenen angedeutet sind, die zu derjenigen des ersten Kokkus parallel stehen. Nach der Teilung sind 4 Zellen vorhanden. Dies wiederholt sich ständig fort, wodurch eben kettenartige oder rosenkranzförmige Verbände entstehen, wie wir einen in der Figur 20 unten abgebildet erblicken.

Wenn sich nun Kugelbakterien abwechselnd nach zwei Richtungen des Raumes teilen, die aufeinander senkrecht stehen, so müssen Verbände entstehen, welche in einer Ebene liegen. Die Figur 21 illustriert, nach einem Modell photographiert, diesen Teilungstypus. Links liegt die Ausgangszelle, die sich entsprechend der weißen Linie teilt. Die dabei her-

vorgegangenen zwei Tochterzellen in der Mitte der Figur teilen sich nun in einer auf die erste Teilungsebene senkrecht stehenden Richtung, wie es wieder die beiden weißen Linien andeuten. Es müssen nach vollzogener zweiter Teilung vier Zellen in einer Ebene liegen. Bei weiteren Teilungen und haftenbleibenden Tochterzellen entstehen tafelförmige Wuchsverbände, die auch Merismopedia genannt werden.



Fig. 21.

Bei kleineren Wuchsverbänden spricht man auch von Tetrakokkus und Tetraden.

Noch anders sehen die Wuchsverbände aus, wenn die aufeinanderfolgenden Teilungen in drei aufeinander senkrechten Raumrichtungen erfolgen, wie sie in Figur 22 dargestellt sind.

In Figur 23 sehen wir die Entstehung eines Wuchsverbandes, wenn die Teilungen nach diesem Typus erfolgen. *a* entspricht der Mutterzelle, die sich entsprechend der weißen Linie teilt. Die beiden Tochterzellen *b* teilen sich dann senkrecht auf die frühere Teilungsrichtung wieder entsprechend den beiden weißen Linien. Die beiden ersten Teilungen erfolgen also genau nach dem unmittelbar früher geschilderten Typus. Die Teilung der entstandenen vier Teilprodukte *c* geschieht nun in der auf den beiden ersten Richtungen senkrecht stehenden Ebenen, die durch die Fläche des Papieres gegeben ist. So entsteht ein Wuchsverband von warenballenartiger Form. Man bezeichnet deshalb die sich nach diesem vierten Typus teilenden Kugelbakterien auch als Sarzinen.

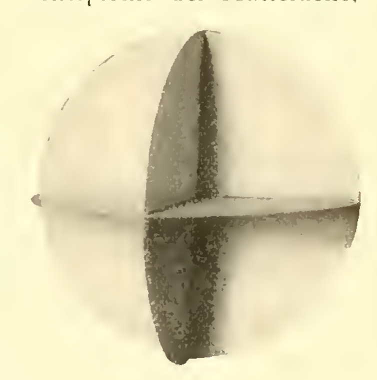


Fig. 22.

Bei allen Stäbchenbakterien, Schraubenbakterien und Scheidenbakterien findet die Teilung immer senkrecht zur Wachstumsrichtung statt. Naturgemäß können daher nur Faden- und Kettenverbände bei ihnen entstehen, sofern die Teilungsprodukte nach der Spaltung durch Kapselbildungen oder Membranverquellungen im Zusammenhange verbleiben. Eine Längsteilung, parallel zur Wachstumsrichtung, konnte bei ihnen nicht mit Sicherheit festgestellt werden.

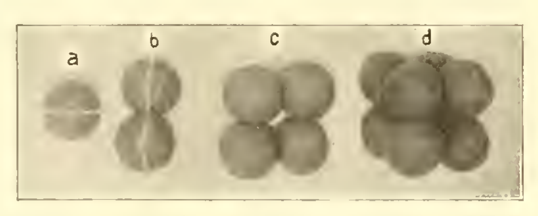


Fig. 23.

Bei den Fadenverbänden kann man im allgemeinen ebensowenig einen Unterschied an beiden Enden wahrnehmen, also etwa Basis und Spitze unterscheiden, wie an den einzelnen Stäbchen. Nur diejenigen Fadenbakterien, bzw. die Fädchen solcher, lassen einen Unterschied zwischen Basis und Spitze erkennen, welche seßhaft sind. So setzt

sich der Faden von Crenothrix polyspora an Steinen, Blättern und dgl. im Wasser mit einem Ende fest, während der übrige Faden frei in der Flüssigkeit hängt. Die Zellen an der festsitzenden Basis sind schmäler als die der Spitze, weshalb der Faden an der Spitze häufig breiter ist als an der Basis.

Wenn die Bakterien sich in einer Flüssigkeit entwickeln und eine Verquellung und Verschleimung der äußeren Membranteile erfolgt, so werden große Wuchsverbände ausgebildet, die schon mit freiem Auge sichtbar sind und in denen die Zellen in einer gemeinsamen homogenen Maße eingebettet erscheinen. Mit Cohn bezeichnen wir derartige Bildungen als Zoogloeen. Hierher gehören auch die feinen Häute und Überzüge auf Flüssigkeiten, die sehr schön vom Heubazillus (Bacillus subtilis) ausgebildet werden. Sie sind schon mit freiem Auge als dünne, zarte, irisierende Häute zu bemerken, die die ganze Wasseroberfläche in gleichmäßiger Schichte überziehen. Besonders gut sind solche Zoogloeen auch bei den Essigbakterien ausgebildet, wenn sie in Flüssigkeiten gezogen werden. Hier sind sie aber derber und dicker.

Der Ausbreitung der Bakterien in Flüssigkeiten stellen sich keine besonderen Hindernisse entgegen. Anders ist es aber, wenn sich Bakterien in der Tiefe oder an der Oberfläche von Gallerten vermehren. Hier können sich auch die beweglichen Bakterienarten nur wenig von der Stelle bewegen. Außerdem setzt selbst die weichste Gallerte schon sehr große Hindernisse entgegen. Die Zellen sind zur Bildung von Zusammenlagerungen gezwungen. Trotzdem sie räumlich beieinander bleiben, bewahrt jede Zelle in diesem Verbande ihre Selbständigkeit.

Auch beim Wachstum der Bakterien auf durchfeuchteten festen Körpern liegen die Verhältnisse ähnlich.

Wir bezeichnen Bakterienzusammenlagerungen in oder auf Gallerten und auf festen Nährsubstraten, sofern sie sich aus einer Zelle oder nur wenigen Individuen entwickelt haben, ganz allgemein als

Bakterienkolonien.

Dieselben sind in jugendlichem Zustande winzig klein und werden dann „mikroskopische Kolonien“ genannt, aus denen durch weiteres Wachstum die schon mit unbewaffnetem Auge gut wahrnehmbaren „Riesenkolonien“ hervorgehen. Die Kolonien sind also aus Individuen derselben Art hervorgegangen. In der Kolonie selbst sind die einzelnen Zellen gleichwertig und selbständig, einerlei, ob sie durch Ausbildung von Gallerthüllen und Schleim in einem innigeren Zusammenhang stehen oder ob sie einfach nur nebeneinander liegen.

Die Form dieser Kolonien ist außerordentlich verschieden und hängt von äußeren Bedingungen und inneren Ursachen ab, die in der Zelle selbst liegen. Unter völligem Gleichbleiben aller äußeren Bedingungen kann die Kolonieform als ziemlich konstant gelten und dann auch zur Unterscheidung der verschiedenen Arten bis zu einem gewissen Grade verwertet werden. Allerdings sind die Kolonieformen verschiedener Bakterienarten in vielen Fällen einander sehr ähnlich und außerdem ist die Einhaltung gleicher äußerer Umstände außerordentlich schwierig.

Wesentlich für die Kolonieform ist die Konsistenz, und bei oberflächlichen Kolonien, die physikalische Beschaffenheit der Oberfläche des Nährsubstrates. Wenn auch die Oberfläche einer Gelatine-, Agar- oder

Kieselsäuregallerte glatt aussieht, so erweist sie sich bei genauer mikroskopischer Untersuchung als rauh und voll von Vorspringen und kleinen Fremdkörpern. Die Konsistenz wird bedingt sein vom Wassergehalt, der Temperatur und bei Gelatine und Agar noch überdies von der Reaktion. So bildet Vibrio aquatilis fluorescens, eine Schraubenbakterie, welche einen fluoreszierenden Farbstoff erzeugt, auf neutraler Nährgelatine mit 10 Proz. Gelatinegehalt innerhalb von 48 Stunden bei einer Temperatur von 20° C Kolonien von der Form, wie sie in der Figur 24 bei *b* abgebildet ist. Setzt man dem Nährboden Sodalösung zu, bis er ziemlich stark alkalisch ist, sind trotz Einhaltung aller anderen Bedingungen die Kolonien ganz anders geformt und viel kleiner, wie es *a* der Figur 24 zeigt. Wieder anders ist das Bild, wenn die Nährgelatine sauer reagiert; dann erhalten wir wieder eine andere Form der Oberflächenkolonien entsprechend *c* der Figur 24. Weiters wird die Koloniebildung noch dadurch beeinflußt, daß während des Wachstums der Bakterien eine Veränderung des gallertigen Nährbodens auftritt, sofern es sich nicht um eine Gallerte handelt, die nur als Vehikel für eine Nährlösung dient, wie beispielsweise Kieselsäure. Es produzieren nämlich sehr viele Bakterien Stoffe, die außerhalb der Zelle erweichend und lösend auf Gelatine und auch Agar wirken,



Fig. 24.

die ja zum Studium der Kolonieformen meistens Verwendung finden. Diese Änderung der physikalischen Eigenschaften der genannten Gallerten üben ebenfalls einen großen Einfluß auf die Koloniebildung aus.

Die Kolonieform ist aber auch beeinflußt durch eine Reihe innerer Momente, von denen die Art und Geschwindigkeit der einzelnen Teilungen ausschlaggebend sind.

Wir wollen die Verhältnisse bei der Koloniebildung unter Zugrundelegung von Gelatine als Nährboden kurz erörtern, da sich die meisten Koloniebeschreibungen von Bakterien auf Kolonien beziehen, die eben auf den verschiedenen Nährgelatinen zur Beobachtung und Untersuchung gelangten. Hutchinson hat zwar seine eingehenden Studien über den Bau und die Bildung der Kolonien von niederen Pilzen an Material angestellt, das auf oder in Agargallerte wuchs. Im Grunde genommen sind die Ergebnisse aber nicht besonders abweichend.

Je nachdem sich die Kolonie in der Tiefe oder auf der Oberfläche ausbildet, sprechen wir von tiefliegenden oder oberflächlichen Kolonien (auch Oberflächenkolonien).

Wenn in verflüssigter Gelatine Bakterien gleichmäßig verteilt werden und die Gelatine dann in dünner Schicht in einer Schale rasch zur Er-

starrung gebracht wird, werden die einzelnen Bakterien dort in der Gallerte gefangen, wo sie sich eben vor der Erstarrung befunden haben. Auch die sehr gut eigenbeweglichen Arten können sich nicht nennenswert von der Stelle rühren, wenn nicht zu dünne Gallerten verwendet werden. Schon in einer Gallerte mit 4 Proz. Gelatine bei Zimmertemperatur ist eine spontane Ortsveränderung der eingesäten Zellen ausgeschlossen. Nun vermehren sich in der Gallerte die Bakterien. Die entstehenden Kolonien werden meist eine kugelige, wetzsteinartige oder scheibenförmige Gestalt aufweisen. Die größte Ausdehnung dieser Gebilde wird sich immer dort finden, wo sich der geringste Widerstand den bei der Teilung sich auseinanderschiebenden Zellen entgegenstellt. Bei denjenigen Arten, die sehr sauerstoffliebend sind, wird ein Bestreben herrschen, der Oberfläche zuzuwachsen, da hier eine stärkere Durchlüftung der Gallerte erfolgt. Im allgemeinen zeigen die sich nach allen Richtungen teilenden Kugelbakterien kugelige, tiefliegende Kolonien. Bei den Stäbchen findet man kugelige bis scheibenförmige Kolonien in der Tiefe. Das gleiche gilt von den Schraubenbakterien. Weiters kann man auch Gebilde finden, bei denen ein mehr kugeliger Kern zahlreiche feinste Ausläufer in die umgebende Gallerte entsendet. Für diese Erscheinung dürfte eine Erweichung des umgebenden Nährsubstrates die Ursache sein, hervorgebracht durch nach außen abgegebene, leimlösende Stoffe (Enzyme). Da in jeder Gallerte an den verschiedenen Stellen sehr verschiedene Spannungen herrschen und auch Spaltrichtungen nachzuweisen sind, so erklären sich längliche, elliptische und dünne Koloniеformen durch die genannten physikalischen Eigenschaften am leichtesten und ungezwungensten.

Viel mannigfaltiger ist die Gestalt und Form der oberflächlichen Kolonien. Dieselben entstehen entweder dadurch, daß eine Bakterienzelle auf der Oberfläche festgehalten wird und dort sich vermehrt oder aber dadurch, daß eine tiefliegende Kolonie bei ihrer Ausbreitung die Oberfläche erreicht. Jede oberflächliche Kolonie besitzt einen Kernpunkt, von wo aus die Entwicklung fortschreitet. Entweder findet sie von dort aus gleichmäßig nach allen Richtungen der Fläche statt oder aber ungleichmäßig. Dementsprechend ist der Umriß entweder durch einen Kreis oder ein Oval im allgemeinen gegeben. Eine weitere Gliederung des Umfanges tritt dadurch ein, daß Ausläufer oder vorspringende Schleifen gebildet werden, wodurch die Kontur ein gebuchtetes oder wie mit Stacheln besetztes Aussehen bekommt. Treten größere Vorsprünge auf, so entstehen Formen, die in ihrem Aussehen an Blätter erinnern. Man bezeichnet sie auch als gelappte Kolonien. Im Schnitt betrachtet erweisen sich die Kolonien ebenfalls recht verschieden. Es gibt solche, die sehr dünne und flache Auflagerungen vorstellen. Weiters findet man halbkugelig gebaute und endlich solche, die nachweislich aus mehreren immer breiteren Etagen aufgebaut sind. Diese Typen werden durch alle erdenklichen Übergänge verbunden. Die Oberfläche der Kolonien ist entweder vollständig glatt oder durch radiäre und konzentrische Adern zerrissen oder von zahllosen Schleifen und Windungen durchsetzt. Hier herrscht eine außerordentliche Mannigfaltigkeit der Erscheinungen, die zu beschreiben zu weit führen würde. In der Figur 24 ist eine Reihe Oberflächenkolonien verschiedener Stäbchenbakterienarten nach Mikrophotogrammen wiedergegeben, die im durchfallenden Licht bei 25—30facher Vergrößerung aufgenommenen worden sind. Wir sehen in *A*, *B* und *D* annähernde kreisrunde

Kolonien, von denen die in *A* abgebildete Kolonie eine ziemlich spitzkegelförmige Erhöhung im Zentrum aufweist, während der Rand flach und dementsprechend durchsichtig ist. Wir sehen hier noch die feine netzartige Struktur der Oberfläche und den leicht gekerbten Rand. *B* zeigt eine etwas größer gebuchtete Kolonie, die überall annähernd gleiche Dicke besitzt und kein Zentrum erkennen läßt. Die Oberfläche hat eine fädige Zeichnung, die durch wellig verlaufende, sehr niedere Falten und Wülste zustande kommt. *D* hat einen etagenartigen, rein konzentrischen Bau mit stark verdicktem Zentrum und äußerst zarten Rand mit radiärer Streifung. *C* weist ebenfalls einen kreisförmigen Bau auf, hat eine sehr verdickte Mitte und setzt sich aus sehr regelmäßig gestalteten Brocken zusammen. Auch *H* läßt die radiäre Anordnung gut erkennen. Die Kolonie ist aber sehr stark gebuchtet und die Oberfläche mit zahlreichen mehr unregelmäßig verlaufenden Falten und Wülsten versehen. Die Mitte ist auch hier kuppenförmig erhoben. Das Zentrum tritt als dunkler Kreis scharf hervor. Dort liegt die tiefliegende Kolonie, die nach Erreichung der Oberfläche die Auflagerung verursachte. *E* und *G* zeigen uns ebenfalls einen streng radiären Bau. Die Mitte beider Kolonien ist mächtig verdickt. Am Rande gehen

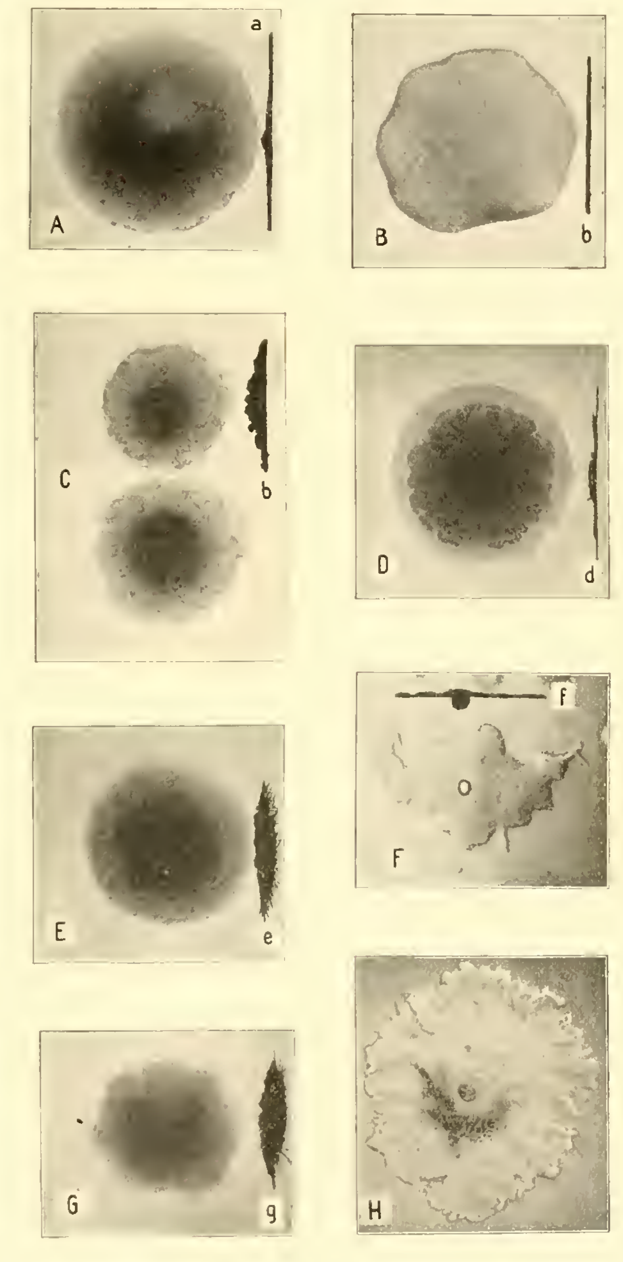


Fig. 25.

sehr feine, radiär gestellte Fäserchen aus, die in die umgebende Gelatine eindringen. Hier haben wir eben zwei Kolonien von Stäbchenbakterien, die die Gelatine erweichen und später vollständig verflüssigen. Deshalb kommt es zu diesem strahligen Vordringen. *F* entspricht einer Oberflächenkolonie, die Ausläufer über die Gelatine treibt. Die Auflagerung zeigt an ihrer Oberfläche nur eine feine netzartige Zeichnung und Körnelung. Im Querschnitt sehen die Kolonien etwa so aus, wie es die mit den kleinen Buchstaben bezeichneten, beigesetzten Schnittzeichnungen (*a*—*f*) erkennen lassen.

Die Kugelbakterien bilden meistens Auflagerungen, die keine besondere Struktur oder Zeichnung erkennen lassen und meist streng kreisförmig begrenzt sind. Gewöhnlich sind solche Kolonien sehr dick und erhaben, mit Halbkugeln zu vergleichen.

Im durchfallenden Licht bei schwacher Vergrößerung betrachtet, erscheinen die Kolonien der Bakterien milchweiß bis bräunlichgelb, bis undurchsichtig schwarz, je nach der Dicke und Mächtigkeit der Auflagerung. Im auffallenden Licht gesehen sind die Kolonien weiß, außer die sie erzeugenden Bakterienarten bilden Farbstoffe. Dann erscheinen sie entsprechend gefärbt.

Die Oberfläche der Auflagerungen ist entweder glänzend, feucht oder wachsartig, fettig oder ganz matt, entsprechend der Schleimbildung, dem Feuchtigkeitsgrad und der Oberflächenbeschaffenheit derselben.

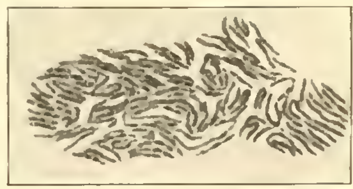
Wird zur Zucht und Anlage der Kolonien Agar verwendet, dann sind alle Kolonien feuchter und haben eine größere Neigung zur Flächenausbreitung. Der Grund liegt darin, daß die Oberfläche mit einer äußerst zarten und dünnen Flüssigkeitsschicht bedeckt ist, die naturgemäß für die rasche Ausbreitung sehr förderlich ist. Zum Studium des feineren Baues sehr jugendlicher Kolonieformen eigent sich diese Gallerte auch ausgezeichnet, wie die Untersuchungen Hutchinsons über die Koloniebildung niederer Pilze ergeben. Wir verdanken dem genannten Forscher unter anderen eine Reihe wertvoller Aufschlüsse über die Koloniebildung aus wenigen Zellen von fadenbildenden Bakterien und Kokken. Infolge des Wachstums und der Vermehrung der Zellen werden die Teilungsprodukte mechanisch immer weiter geschoben und durch entgegenstehende Hindernisse in der Richtung abgelenkt, wodurch die so oft zu sehenden Schleifen und Schlingenbildungen zu erklären sind. Besonders trifft dies für alle Bakterien zu, bei denen die Teilungsprodukte längere Zeit untereinander verbunden bleiben. Schwer zu erklären ist die Entstehung der Kolonieform von Spirillum adriaticum, einer Meerwasserschraubenbakterie. In den jungen mikroskopischen Kolonien sieht man die einzelnen Spirillen unverbunden in der Weise liegen, wie es *a* und *b* der Figur 26 zeigt. Hier wurde einfach die sehr junge Kolonie durch Auflegen eines Deckgläschens abgeklascht und die am Deckglas in ihrer ursprünglichen Lage festgeklebten Zellen gefärbt und photographiert. Aber auch hier dürfte ein spiraliges Weitergleiten der Teilprodukte die Ursache der runden und ovalen Kolonieform sein.

Viel besser ist die schleifenartige Anordnung der einzelnen Zellen in dem in Figur 27 wiedergegebenen Abklatsch einer Kolonie von Stäbchenbakterien zu sehen. Auch hier neigen die Zellen nicht zur Bildung von Fäden und dennoch weisen die in der Kolonie liegenden Zellen eine Lage

auf, die konzentrischen Kreisen annähernd entspricht, was besonders am Rande deutlich ist.

Die feinere Untersuchung der eine Kolonie zusammensetzenden Bakterien ergibt, daß dieselbe neben den lebenden Bakterien besonders in den mittleren Partien eine ungeheure Anzahl nicht mehr lebensfähiger und vermehrungsfähiger Zellen enthält. Die Ursache dafür ist dem Ernährungsmangel und der Anhäufung der Stoffwechselprodukte in diesen Kolonieteilen zuzuschreiben. Den Bakterien der einzelnen Koloniepartien besondere Funktionen zuzuerkennen, wie es von Seite mehrerer Untersucher geschehen ist, geht durchaus nicht an, denn alle Zellen einer Kolonie bewahren zeitlebens ihre Selbständigkeit und sind in bezug auf ihre Lebenstätigkeit als gleichwertig zu betrachten.





a Fig. 26. *b*

Die an der Oberfläche von Agar oder Gelatinennährböden längs eines **Impfstriches** entstehenden Auflagerungen zeigen Formen, die auf die Kolonieform der betreffenden Art zurückzuführen sind. Beim Anlegen der sogenannten „Strichkulturen" führt man die mit dem Bakterienmaterial bedeckte Impfnadel in gerader Linie streichend über den Nährboden hin. Dabei streifen sich besonders beiderseits vom Impfstrich die Bakterien ab. Aus jeder abgelagerten Zelle entsteht eine mikroskopische Kolonie; dieselben bilden dann die makroskopisch sichtbare Auflagerung. Unter dem Mikroskop kann man dann die einzelnen kleinen Kolonien gut wahrnehmen, die die Auflagerung zusammensetzen, wie es in dem Mikrophotogramm der Figur 28 dargestellt ist. Wir sehen hier den horizontalen Impfstrich, und oben und unten von demselben die scheibenartigen Einzelkolonien, die die zusammenhängende Auflagerung oder den Kulturrasen der Strichkultur ausmachen.

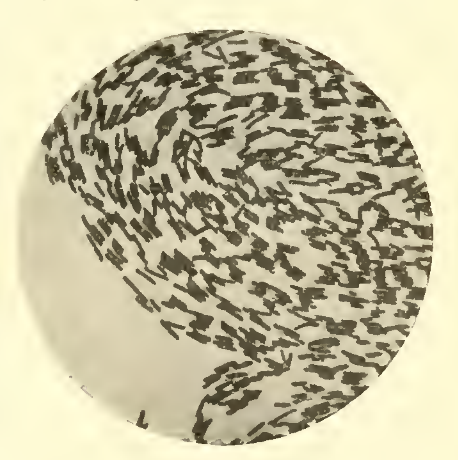


Fig. 27.

Die Größe der Kolonie der einzelnen Bakterienarten ist sehr verschieden und abhängig von der Größe der einzelnen Zellen und besonders der **Vermehrungsgeschwindigkeit** derselben. Letztere wird wieder von den Ernährungsverhältnissen und der Temperatur bedingt. Natürlich spielen bei den tiefliegenden Kolonien die Druckverhältnisse im Nährsubstrat eine nicht zu unterschätzende Rolle. Die Zeit, welche eine vollständige Zellteilung braucht, pflegt man als „Generationsdauer" zu be-

zeichnen. Dieselbe beträgt bei den Bakterien durchschnittlich 20—40 Minuten, sofern günstige Bedingungen herrschen. Der Bacillus subtilis (Heubazillus) teilt sich etwa in einer halben Stunde, der Choleravibrio in ungefähr 20 Minuten. Diese Schnelligkeit des Teilungsvorganges mit den außerordentlich raschen Teilungsfolgen würde zu ganz enormen Bakterienmengen führen. Rechnungsmäßig müßten beim Choleravibrio unter Zugrundelegung einer Teilung in je 20 Minuten nach 24 Stunden 1600 Trillionen Nachkommen vorhanden sein. Dies würde etwa 2000 Zentner Trockensubstanz dieser Bakterienart entsprechen. Weder in der freien Natur noch im Laboratorium kommt es aber zu einer so enormen Entwicklung, denn die eigenen Stoffwechselprodukte setzen schon so einer Massenvermehrung Schranken. Der Ernährungsmangel, der selbst unter den günstigsten Bedingungen bei einer solch riesigen Vermehrung alsbald sich einstellen muß, wird hier ebenfalls hindernd eingreifen. In der freien Natur wird als hinderliches Moment auch der Kampf ums Dasein auftreten, da es sich hier ja immer um Gemische verschiedener Bakterienarten handelt, die gleichzeitig sich vermehren. Endlich muß noch berücksichtigt werden, daß sich eine Zelle nicht ins ungemessene vermehren kann, ohne daß dazwischen Ruhepausen und Ruhestadien eingeschaltet werden, wie die Erfahrung lehrt. Auch werden nicht alle Nachkommen einer Zelle gleich vermehrungsfähig sein und dieses Vermögen dauernd erhalten. Ein großer Teil derselben erliegt einem frühen Tode. Die Summe aller genannten vermehrungshinderlichen Momente verhütet eine so maßlose Vermehrung, wie sie sich zahlenmäßig durch die Rechnung ergibt.

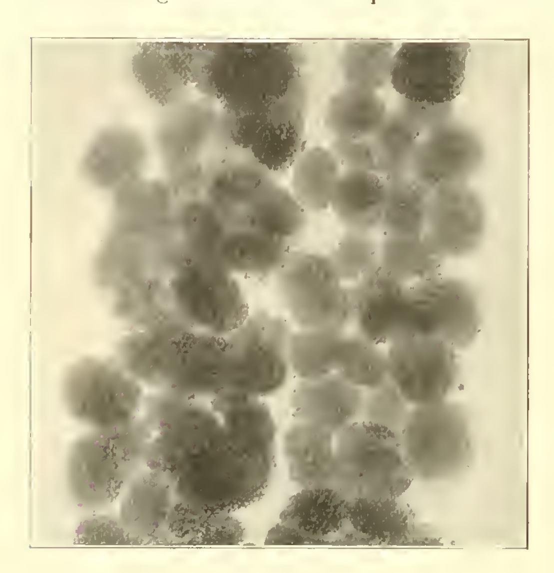


Fig. 28.

Bei der Vermehrung durchlaufen alle Bakterien

Entwicklungskreise.

Dieselben enthalten für die verschiedenen Stadien eine Fülle von Formen, die zu bestimmten Dauerformen führen, die wieder verschieden ausgebildet sind. Die kleinen Entwicklungskreise bei der Vermehrung der vegetativen Bakterienzelle haben wir eigentlich schon kennen gelernt und sie sollen nur kurze Erwähnung an einem Beispiel finden. Die Pseudomonas cerevisiae, eine Bakterie aus Flaschenbier, stellt ein Stäbchen dar. Dasselbe verlängert sich allmählich etwa auf das doppelte und teilt sich dann in zwei Tochterstäbchen. An den Nachkommen gewahren wir eine Zeit hindurch, solange die Ernährungs- und Wachs-

tumsbedingungen günstig bleiben, dieselben Vorgänge, die wir als kleinen Entwicklungskreis bezeichnen können.

Bei allen Bakterien hören nach einer gewissen Zeit die kleinen Entwicklungskreise auf und es kommen Formen, die schließlich zu Dauerzuständen führen. Letztere sind zur Erhaltung und Verbreitung der Art da, wenn die Bedingungen zur vegetativen Vermehrung sich verschlechtern und schließlich gänzlich aufhören. Erst aus der Dauerform entwickelt sich wieder eine Vegetationszelle, sobald erstere wieder in günstige Lebensbedingungen kommt. Daher sind sämtliche Dauerformen dadurch ausgezeichnet, daß sie widerstandsfähiger gegen schädigende Einflüsse sind. So ertragen sie eine völlige Austrocknung längere Zeit hindurch schadlos und sind auch für hohe Salzkonzentrationen und Gifte weniger empfindlich, als die vegetativen Zellen. In vielen Fällen überdauern sie sogar ganz enorme Erwärmungen, die weit über der Koagulationstemperatur des Eiweißes liegen. Ihre Bildung stellt den Schluß des großen Entwicklungskreises einer Bakterienart vor, der also sowohl die vegetativen Formen als auch die Dauerformen umfaßt. In den großen Entwicklungskreis ist der kleine immer eingeschlossen oder einbezogen, da wenigstens bei den Bakterien die Dauerzelle sich nicht unmittelbar in zwei Dauertochterzellen teilen kann. In der Regel entsteht das Sporangium erst wieder nach Durchlaufung des kleinen Entwicklungskreises aus den Vegetationszellen. Ausnahmsweise kann aber auch eine verkürzte Entwicklung platzgreifen. So berichtet Garbowski über einen verkürzten Entwicklungsgang von Bacillus tumescens und asterosporus. Darnach bildet sich das ganze Keimstäbchen ohne Durchlaufung des kleinen Entwicklungskreises sofort nach der Keimung in ein Sporangium um. Allerdings ist diese Erscheinung mit einer Reduktion der Sporengröße verknüpft.

Das folgende Schema in Figur 29 gibt die Entwicklungskreise von Bacillus subtilis (Heubazillus) wieder. Wenn wir von der vollentwickelten Vegetationsform ausgehen, so verlängert sie sich und teilt sich schließlich. Bei den Tochterzellen finden wir fast das gleiche. Immer werden „Schwärmer", also begeißelte Vegetationsformen ausgebildet, die den kleinen Entwicklungskreis ausmachen. Nachdem dies durch einige Generationen hindurch geschehen ist, bleiben bei den folgenden Teilungen die noch immer mit Geißeln versehenen Teilungsprodukte im Verbande und bilden gut bewegliche Ketten. Nun nehmen die Teilungen ab und werden schließlich gänzlich eingestellt. Im Zellkörper der einzelnen Fadenglieder treten hierauf immer größer werdende Granula auf, deren Lichtbrechungsvermögen zunimmt. Diese Granula vereinigen sich und bilden eine neue Zelle in der Vegetationszelle, die Dauerzelle, die allmählich heranreift und sich fest umhäutet. Nach vollendeter Reife wird sie durch Zerfall der Mutterzelle frei. Kommt nun diese Dauerzelle auf einen tauglichen Nährboden, so quillt sie an, keimt dann und aus dem Keimstäbchen geht eine neue Vegetationszelle hervor, die wieder den Entwicklungskreis durchläuft.

Solche dick umhäutete Dauerzellen werden aber nicht bei allen Bakterien ausgebildet, wenn auch bei ihnen ein Dauerstadium oder eine Ruhepause sicherlich eintritt. Hier treten an die Stelle der einen, von einer Zelle gebildeten Spore oder Dauerform Granula oder Körnchen, aus denen

sich ebenfalls wieder Vegetationsformen entwickeln können. Diese Art von Sporenbildungen erweist sich weit weniger resistent gegen ungünstige Einflüsse aber doch viel widerstandsfähiger als die Vegetationszelle. Hier wird im Entwicklungskreis die Dauerform durch diese konidienartigen Bildungen ersetzt.

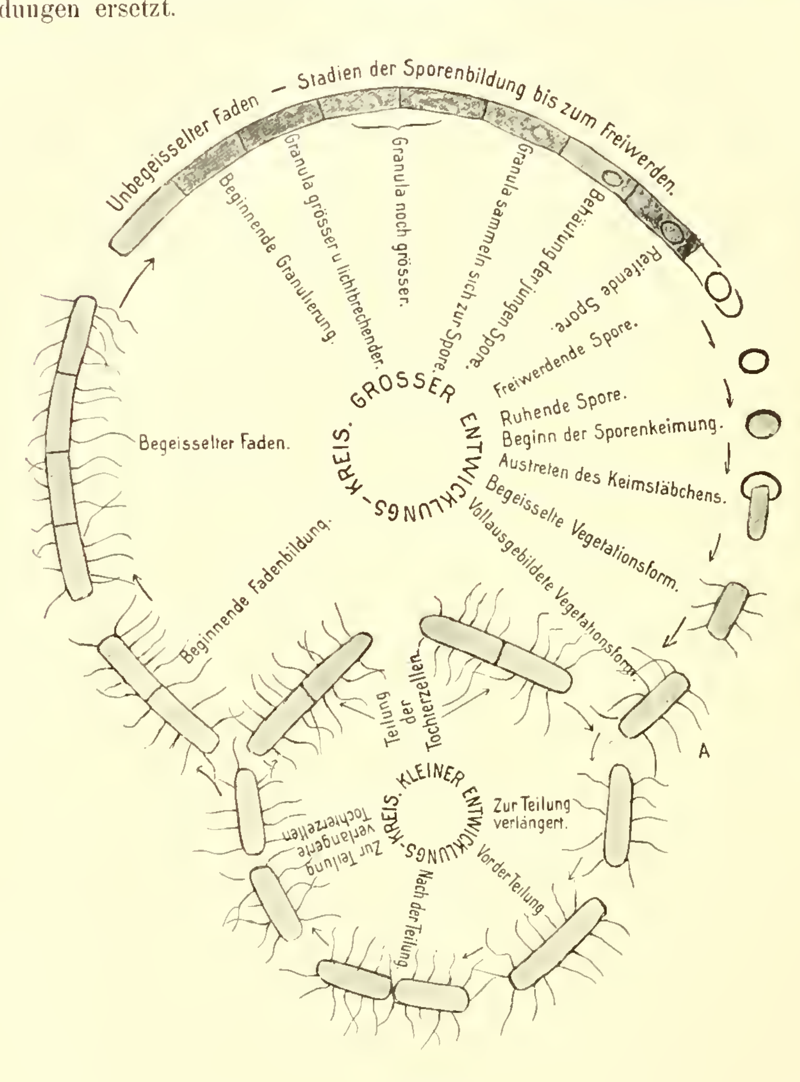


Fig. 29.

Der folgenden, in der Figur 30 wiedergegebenen, schematischen Darstellung des Entwicklungskreises nicht sporenbildender Bakterien sind Befunde zugrunde gelegt, die sich auf Pseudomonas cerevisiae, eine Flaschenbierbakterie, beziehen. Wir wollen wieder von der vollentwickelten Vegetationsform *A* ausgehen. Dieselbe verlängert sich zur Teilung, bildet ein zweites Büschel von Geißeln am entgegengesetzten Pol aus

und teilt sich dann. Diese Erscheinungen wiederholen sich durch einige Generationen hindurch. Dann nimmt die Wachstumsenergie ab und es entstehen bei den nun folgenden langsamen Teilungen bewegungslose Ketten, die keine Geißeln mehr besitzen. Jetzt hört jede Teilung vollends auf und das Protoplasma der einzelnen Zellen in den Kettenverbänden wird fein granuliert. Die beiden Endzellen der Kette vergrößern sich nun kolbig oder birnenförmig, die Granula werden größer und die Scheidewände zwischen der birnenförmigen Auftreibung und der benachbarten Zelle verschwinden. Die Granula vergrößern sich noch mehr und fließen

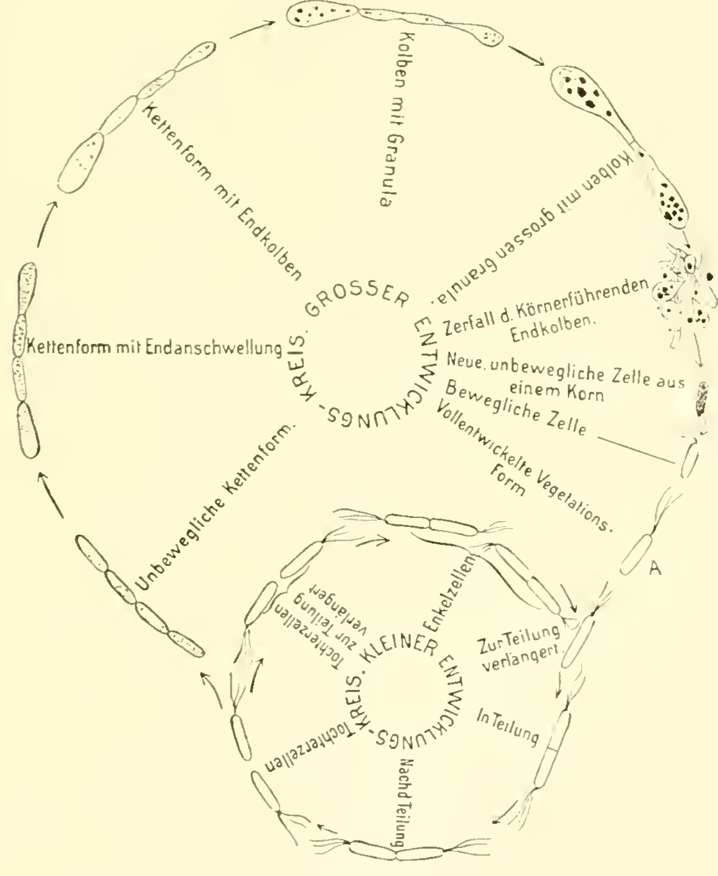


Fig. 30.

fast sämtlich in die Endkolben. Schließlich zerfallen letztere und die großen Körner werden frei. Sie liegen in einem Gemengsel von Plasmaresten und Zellwandstücken, die man als Bakteriendetritus gemeiniglich bezeichnet. Kommt dieser Detritus auf ein neues, brauchbares Substrat, so entwickeln sich aus den großen Körnern neue, in der Jugend noch unbegeißelte Vegetationszellen, die alsbald Geißeln treiben und in den kleinen Entwicklungskreis eintreten.

An der genannten Pseudomonasart kann man diese Erscheinungen in alten Kulturen und auch dann beobachten, wenn künstlich durch höhere

Temperaturen und Salzkonzentrationen ungünstige Vermehrungs- und Wachstumsbedingungen geschaffen werden. Almquist u. a. haben ähnliches auch bei einer Reihe anderer nicht sporenbildender Bakterien beobachtet. Es entstehen dabei ebenfalls verschiedene Formen im Verlaufe des Entwicklungskreises, die sich aber von den oben beschriebenen teilweise unterscheiden.

Wie schon bei der Besprechung der Entwicklungskreise von Bakterien kurz erwähnt wurde, vollzieht sich die

Sporenbildung

unter einer Reihe von Veränderungen in der Zelle. Dabei bildet sich die Vegetations- oder Oidiumform in ein Sporangium oder eine Sporenmutterzelle um, wobei auch Gestaltsänderungen der Zelle auftreten oder fehlen können. In vielen Fällen erscheint das Sporangium nach Ausbildung der reifen Spore nur mehr von einem dünnflüssigen Inhalt ohne jeden geformten Einschluß erfüllt, so daß der Gesamtzellkörper in die Spore aufgenommen erscheint. Bei zahlreichen Bakterienarten bleibt aber sicherlich ein größerer oder kleinerer Plasmarest übrig, der häufig noch Reservestoffe enthält. Clostridium butyricum behält beispielsweise seine Begeißelung während der ganzen Sporenbildung und Sporenreife und man beobachtet ein Herumschwärmen der Sporangien mit den fertigen Sporen. Erst spät werden die Bewegungen beim Zerfall der Sporenmutterzelle eingestellt. Hier ist ein Plasmarest gewiß außerhalb der Spore geblieben, der die aktive Beweglichkeit ermöglicht. Die bei der Sporenbildung auftretenden morphologischen Veränderungen können nur bis zu einem gewissen Grade als artkonstant angesehen werden, da dieselben selbst bei ein und derselben Bakterienart Verschiedenheiten aufweisen, die mitunter recht auffallend und bedeutend sind.

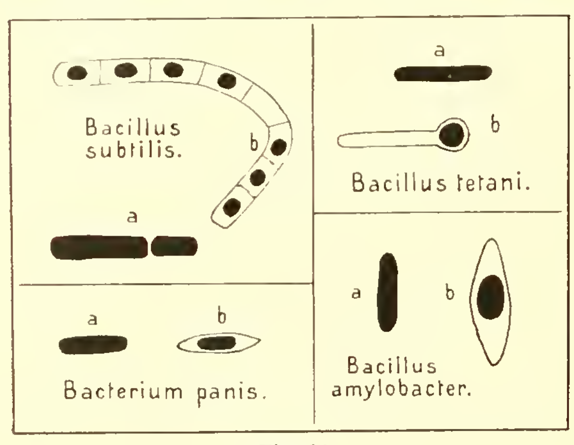


Fig. 31.

Im allgemeinen entsteht die Spore durch eine freie Zellbildung in dem aus dem Oidium hervorgegangenen Sporangium. Die bei diesem Übergang oder bei dieser Zellbildung auftretenden Veränderungen des Zellinhaltes lassen sich deshalb nicht einheitlich darstellen, weil sie sich nicht nur bei den einzelnen Bakterienarten verschieden erweisen, sondern sogar bei den Individuen ein und derselben Art. Allen diesen Vorgängen ist aber eine Kondensierung und Verdichtung des Plasmas mit den Kernäquivalenten zugrunde gelegt. Der stark lichtbrechend und wasserarm gewordene Zellinhalt, der sich in bestimmten Zellbezirken ansammelt, umgibt sich mit einer sehr derben Membran, an der eine Schichtung und Strukturierung häufig zu beobachten ist. Die Ausbildung der Spore im

Sporangium geschieht entweder im oder nahe dem Zentrum oder an einem Pole. Als streng artcharakteristisch kann die Sporenlage im Sporangium nur bei jenen Arten angesehen werden, die ihre Dauerform immer in einer Endauftreibung des Sporangiums ausbilden, während man bei denjenigen Bakterien, die bei der Sporulation eine Auftreibung in der Zellmitte aufweisen, die Sporenlage in der Sporenmutterzelle sehr verschieden ist.

Die Form des Sporangiums entspricht entweder genau derjenigen der vegetativen Zelle oder weist Verschiedenheiten auf. In der Abbildung 31 S. 50 ist eine Reihe von ausgebildeten Sporangien mit den fertigen Sporen schematisch wiedergegeben. Beim Bacillus subtilis sehen wir keinen Unterschied zwischen der Form des Sporangiums (*b*) und der vegetativen Zelle (*a*). Die gleichen Erscheinungen finden wir auch beim Anthraxbakterium. Bacterium panis, ein Erreger des Fadenziehens beim Brote, zeigt zugespitzte Sporangien (*b*), deren Querdurchmesser aber denjenigen des Oidiums (*a*) nicht überschreitet. Solche zugespitzte Formen bezeichnen wir als Clostridien. Bacillus amylobacter weist in seinen Sporangien (*b*) ebenfalls die Clostridiumform auf. Die Sporangien sind gegenüber den Oidien aber beträchtlich vergrößert. Beim Bacillus tetani, dem Erreger des Wundstarrkrampfes, finden wir die Sporen polar gelagert, so daß Trommelschlägerformen oder Plektridien (*b*) zur Ausbildung gelangen. Das Sporangium zeigt dementsprechend an einem Pole eine kugelförmge Erweiterung, in der die Spore sitzt. Die übrigen Teile sind nicht anders geformt als bei der vegetativen Zelle (*a*).

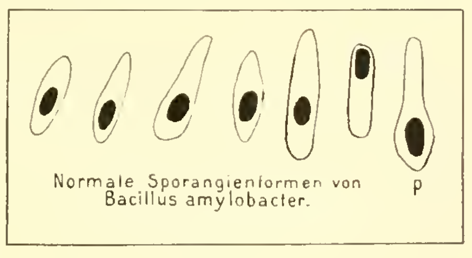


Fig. 32.

Die Form der Clostridien ist aber bei ein und derselben Bakterienart nicht eine durchwegs gleiche, wie die Untersuchungen Bredemanns u. a. ergeben haben. Neben der Spindelform findet sich auch, wenn auch weniger häufig, eine Plektridienform, die aber nicht so rein eingehalten ist, wie bei der oben genannten Art. Die Verschiedenheiten der Sporangienform von Bacillus amylobacter ist in Figur 32 wiedergegeben. Die Zeichnungen sind hier, etwas schematisiert, nach den Untersuchungen Bredemanns angefertigt. Man sieht, daß die Clostridiumform bald mehr, bald weniger deutlich zum Ausdrucke kommt und mitunter auch Plektridien in Erscheinung treten (*p*).

Die Spore wird nun im jungen Sporangium allmählich herausgebildet oder, besser gesagt, die Sporenbildung fängt mit der Umwandlung des Oidiums ins Sporangium an. Die dabei auftretenden Erscheinungen im Zellkörper sind sicherlich bei den einzelnen Bakterienarten verschieden, wenn sie auch überall darauf hinausgehen, eine Verdichtung der Inhaltsmassen herbeizuführen. Nur wenige Bakterienarten wurden auf die Morphologie der Sporenbildung hin genauer untersucht, von denen einige hier dafür als Beispiele aufgeführt werden sollen.

Die Sporulation von Bacillus asterosporus, den Arthur Meyer und Bredemann besonders eingehend untersuchten, beginnt mit einer Anschwellung des nun nicht mehr beweglichen Oidiums und dem

Auftreten einer Art Vakuole in der Nähe eines Poles. Der Vakuoleninhalt ist nicht nennenswert lichtbrechender als der übrige Zellinhalt. Gleichzeitig findet in dem nun jungen Sporangium eine Speicherung von Glykogen statt, das größtenteils bei der Sporenbildung wieder aufgebraucht wird. In dem Vakuoleninhalt gewahrt man gelegentlich ein kleines stark lichtbrechendes Körperchen, das als Sporenkern zu deuten ist. In Figur 33 *a*, *b* und *c* sind diese Stadien der Sporulation nach den Untersuchungen und Abbildungen A. Meyers wiedergegeben. In der Folge kondensiert sich der Gehalt der Sporenanlage immer mehr und wird stärker lichtbrechend. Gleichzeitig hellt sich das Zytoplasma in der Umgebung der Sporenanlage auf (Figur 33 *d*) und um dieselbe wird eine Membran ausgebildet, die bei dieser Bakterienart noch Leisten trägt. Die Spore ist dann fertig (Figur 33 *e*) und wird nach Auflösung der Sporangienmembran frei.

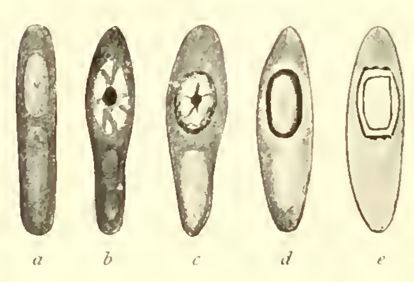


Fig. 33.

Die Sporenbildung zahlreicher Bakterienarten verläuft nach diesem Typus.

In ähnlicher Weise werden auch die Sporen von Bacillus amylobacter ausgebildet. Doch kommt es dabei noch zur Speicherung von Iogen neben dem Glykogen. Beide Stoffe werden besonders in dem Zellteil aufgestapelt, der keine Spore ausbildet. Hier liegt die Spore in dem Clostridium meist in einer Zellhälfte einem Pole genähert, während die andere Hälfte die Reservestoffe beherbergt, die oft nur zum Teil bei der Sporulation verbraucht werden. Beim Freiwerden der reifen Spore wird in derRegel die Wand des die Reservestoffe enthaltenden Sporangienabschnittes allmählich gelöst oder abgebrochen, während der übrige um die Spore liegende Wandteil erhalten bleibt. Die Spore liegt dann in der hyalinen Grundmasse des Sporangiums eingebettet. In Figur 34 sind die Erscheinungen des Freiwerdens der reifen Spore von Bacillus amylobacter nach den Untersuchungen und Abbildungen von Bredemann dargestellt. Wir sehen in *a* das in Lösung begriffene Sporangium, welches noch Glykogen enthält, während in *b* die Membran des Sporangiums an der von der Spore abgekehrten Seite bereits geöffnet ist und Glykogen austreten läßt. Die Sporangiumhaut in der Umgebung der Spore ist vollkommen erhalten. Die anderen Sporangien dieser Figur sind zum Teil aufgebrochen und das in der Nähe der Spore gelagerte Glykogen (*g*) verschwindet allmählich, bis die Spore frei ist, die in diesem Zustand *f* wiedergibt. Die Sporangiumhaut ist um die Spore erhalten und sieht deutlich abgerissen aus, so daß die Spore wie in

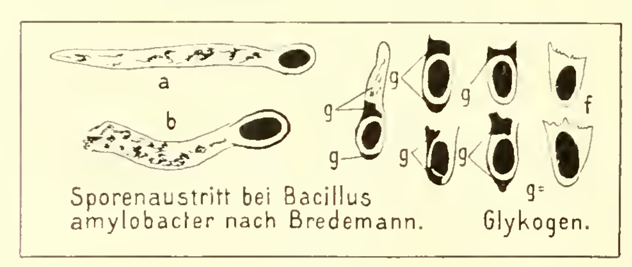


Fig. 34.

ein Becherchen eingelagert erscheint und gleichsam eine „Sporenkapsel" trägt.

Ambroš und Růčižka untersuchten die Sporenbildung von Bacillus nitri und Bacterium anthracis und fanden dabei eine besondere Anordnung und Veränderung des Chromatins, das in der fertigen Spore in das Plastin übergangen sein soll, weshalb der Sporenkörper keine Färbungen mehr annimmt.

In der Regel wird in einer Zelle nur eine einzige Spore gebildet. Ausnahmen kommen aber nicht allzu selten vor. Um nur wenige Beispiele aufzuführen, sei der Bacillus inflatus genannt, der häufig in dem clostridiumförmigen Sporangium zwei Sporen enthält, wie es die Abbildung *A* der Figur 35 nach A. Koch zeigt. Auch der schon vielgenannte Bacillus amylobacter enthält in einem Sporangium ab und zu zwei Sporen, die dann aber an den beiden entgegengesetzten Polen desselben liegen, wie es nach Bredemann *B* der Figur 35 aufweist.

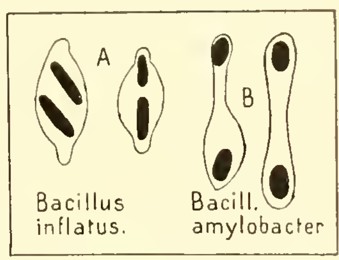


Fig. 35.

Solche, durch freie Zellbildung hervorgegangene endogene Sporen finden wir nur bei zahlreichen Stäbchenbakterien und einer einzigen Spirille, dem Spirillum endoparagogicum, des Sorrokin untersuchte.

Die Sporenbildung ist von einer Reihe äußerer Momente abhängig, ebenso die Geschwindigkeit des ganzen Vorganges. Bedingung dafür ist, daß das Oidium sich in guten Ernährungsbedingungen befindet und bei einer Temperatur gehalten wird, bei der maximale Vermehrung eintritt (Temperaturoptimum). Zu hohe und niedere Temperaturen verzögern oder verhindern die Sporenbildung vollständig. Sobald aber die gut ernährten Oidien oder vegetativen Zellen in ungünstige Ernährungsbedingungen gelangen oder eine Anhäufung von Stoffwechselprodukten in den Kulturen statthat, setzt die Sporenbildung ein. In vielen Fällen fördert die Sporulation auch eine gute Durchlüftung, weil der Sauerstoff der Luft dann genügend Zutritt hat.

FÜNFTE VORLESUNG.

Morphologie und Keimung der Sporen. Konidien, Arthrosporen.

Bei den einzelnen Bakterienarten haben die reifen Sporen eine verschiedene

Form,

die auch bei den Sporen ein und derselben Art eine große Mannigfaltigkeit aufweist. In Figur 36 sind typische Sporenformen verschiedener Bakterienarten nach den Untersuchungsergebnissen zahlreicher Autoren zusammengestellt. *1* dieser Figur entspricht den kugeligen Sporen von Bacillus tetani, dem Erreger des Wundstarrkrampfes, *2* den leicht ovalen, fast kugeligen Sporen von Bacillus subtilis, dem Heubazillus, *3* dem schon länglicheren Dauerformen des Bacillus amylobacter, von denen die rechts abgebildete feine Körnchen und Höckerchen an der Oberfläche trägt. Bacillus mycoides bildet noch länglichere, ovale Sporen (*4*) aus, deren Form beim Bacillus inflatus sich schon sehr dem an den Enden abgerundeten Stäbchen (*5*) nähert. *6* und *7* entsprechen Sporenformen von Bacillus teres und Bacillus leptodermis, die fast scharfe Kanten und im Längsschnitt fast eine Rechteckform aufweisen. Die Sporen von Bacillus asterosporus (*8*) haben eine Tonnenform mit vorspringenden Längsleisten. Dies sind so die Typen der Sporenformen; daneben finden sich alle erdenklichen Übergänge und auch einseitig abgeplattete und nierenförmig eingezogene Sporen.

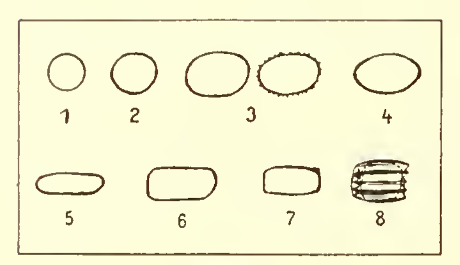
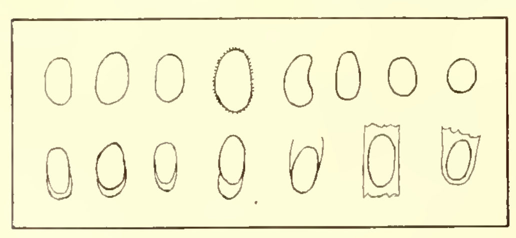


Fig. 36.


Fig. 37.

Die Sporen einer einzelnen Bakterienart weisen ebenfalls recht beträchtliche Unterschiede in der Form auf, wofür uns wieder der Bacillus amylobacter ein ausgezeichnetes Beispiel gibt.

In der Figur 37 sind die verschiedenen Formen der Sporen dieser Bakterienart nach Bredemann wiedergegeben. Wir sehen hier neben eliptischen und ungleich gerundeten Formen auch eine nierenartig gestaltete und eine fast kugelige Spore. In der unteren Reihe sind Sporen mit erhaltener „Sporenkapsel" wiedergegeben, die entweder nur einem Sporenpol aufsitzt oder die Spore wie eine Röhre umgibt. Wie schon früher hervorgehoben, handelt es sich hier um Reste der Sporangiummembran.

Die Bakteriensporen besitzen sowohl bei den einzelnen Arten verschiedene

Größe

als auch bei den Individuen einer bestimmten Art. Im allgemeinen geht ihr längerer Durchmesser über 3 Mikren nicht hinaus. In der folgenden Tabelle sind einige Sporengrößen zusammengestellt.

Bakterienart	Durchschnittliche Größe in μ		Autor
	Länge	Breite	
Bacillus asterosporus . .	2,29	1,28	Bredemann
„ amylobacter . . .	2,11	1,19	Bredemann
Bacterium flexile	1,9	1,12	Burchard
Bacillus mycoides	1,4—2,4	0,83—0,91	Holzmüller
„ dilaboides . . .	1,5—1,9	0,7—0,9	Haselhoff u. Bredemann
Bacterium pituitans . . .	1,9	1,08	Burchard
„ perittomaticum .	1,63	1,3	Burchard
„ panis	1,3—1,1	0,5—0,8	Fuhrmann
Rauschbrandbazillus . . .	1,5	0,98	Berechnet nach Hibler
Bacillus megatherium . .	1,5	0,9	Neide
Bacterium brachysporum .	1,3	1,06	Burchard

Es ließe sich diese Zusammenstellung noch sehr erweitern, da über die Sporen der meisten Bakterien Messungen vorliegen. Die Durchschnittswerte haben aber nur dann einen Wert, wenn ihnen sehr zahlreiche und genaue Messungen zugunde liegen, wie es bei den von Bredemann untersuchten Bacillus amylobacter und Bacillus asterosporus der Fall ist. Hier ist das Mittel von 1000 Messungen angegeben.

Die Abweichungen der Abmessungen der Sporen einer Bakterienart sind übrigens manchmal so beträchtlich, daß man versucht ist, an ein Gemisch zweier verschiedener Bakterienarten zu denken. Die genaue Untersuchung der Sporengrößen von einer Reihe für verschieden gehaltener und auch dementsprechend verschieden benannter Bakterienarten ergab oft die Zusammengehörigkeit und Arteneinheit derselben. Von den wenigen diesbezüglichen einwandsfreien Untersuchungen sei diejenige Bredemanns über die verschiedenen Stämme von Bacillus amylobacter hervorgehoben, aus der hervorgeht, daß zahlreiche Clostridienarten verschiedener Autoren identisch sind, da neben anderen gemeinsamen Eigenschaften auch die Verschiedenheiten der Sporengröße bei den einzelnen untersuchten Arten im wesentlichen gleich sind. Als Beispiel sei nur ein kleiner Auszug aus der Zusammenstellung Bredemanns herausgegriffen. Sämtliche Kulturen wurden unter denkbar gleichen Bedingungen gehalten, um zu Vergleichen brauchbare Ergebnisse zu bekommen. Immer wurden 50 Sporen gezeichnet und gemessen, die Anzahl der Sporen gleicher und bestimmter Größe ausgezählt und tabellarisch zusammengestellt, wie folgendes Beispiel zeigt:

Sporenmaße verschiedener Stämme des Bacillus amylobacter.

	Stamm 57. Kamerungebirge, Moliwe	„Granulobacter butylicum“ Beijerinck	„Granulobacter pectinovorum“ Beijerinck et van Delden	„Bacillus amylobacter I“ Gruber
	Von 50 gemessenen Sporen Anzahl derjenigen von der			
Breite 0,8 μ	—	1	—	—
„ 1,0 „	8	9	10	30
„ 1,2 „	33	28	28	18
„ 1,4 „	9	12	12	2
„ 1,6 „	—	—	—	—
„ 1,8 „	—	—	—	—
Länge 1,8 μ	4	6	4	7
„ 2,0 „	27	19	23	24
„ 2,2 „	11	25	15	11
„ 2,4 „	8	8	8	5
„ 2,6 „	—	2	—	2
„ 2,3 „	—	—	—	1

Noch anschaulicher werden diese Verhältnisse, wenn man die Zählergebnisse graphisch darstellt, wie es nach Bredemann in der folgenden Figur 38 geschehen ist. Hier sind auf der Abszisse die Breiten und Längen aufgetragen, während auf der Ordinate jene Zahlen verzeichnet sind, die angeben, wieviel von je 50 ausgemessenen Sporen die entsprechende Breite bzw. Länge aufweisen.

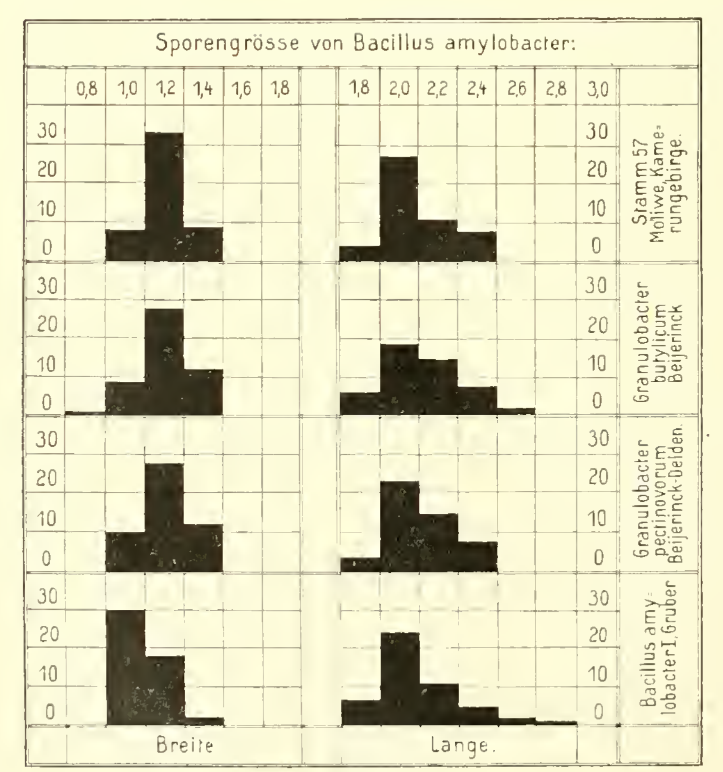


Fig. 38.

Diese Darstellung gibt auch ein vorzügliches Bild von der „Variation“ der Sporengröße einer Bakterienart überhaupt und der bei einer Art hauptsächlich vorkommenden Größe. Die Sporengröße einer

Bakterienart ist aber auch wesentlich abhängig von der Beschaffenheit des verwendeten Nährsubstrates, wie unter anderen aus den Untersuchungen Bredemanns über Bacillus amylobacter zu entnehmen ist. Die folgende kleine Zusammenstellung der Sporengrößen auf fünf verschiedenen Nährsubstraten unter Gleichhaltung aller anderen äußeren Bedingung läßt sofort Unterschiede erkennen.

Sporengröße des Stammes „Buitenzorg" (17a) von Bacillus amylobacter auf verschiedenen Nährsubstraten nach Bredemann.

Nährboden	Anzahl von 50 gemessenen Individuen mit der																				
	Breite								Länge												
	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0	2,2	2,4	2,6	2,8	3,0
Dextrose-Agar, neutral	—	—	—	11	20	14	5	—	—	—	—	—	—	1	3	21	12	9	2	1	1
Dextrose-Agar, alkal.	—	—	—	4	20	21	5	—	—	—	—	—	—	—	1	9	12	17	10	1	—
Agar ohne Dextrose .	—	2	10	20	17	1	—	—	—	—	2	7	6	6	3	5	6	6	4	4	1
Erdagar	1	19	17	9	4	—	—	—	—	—	—	1	7	17	14	9	2	—	—	—	—
Dextrose-Agar + MgO	12	26	9	2	1	—	—	—	1	3	5	20	11	10	—	—	—	—	—	—	—

Noch viel deutlicher treten dieselben hervor, wenn wir die in der Tabelle enthaltenen Zahlenangaben nach der oben angegebenen Manier graphisch darzustellen versuchen, wie es in der Figur 39 versucht ist.

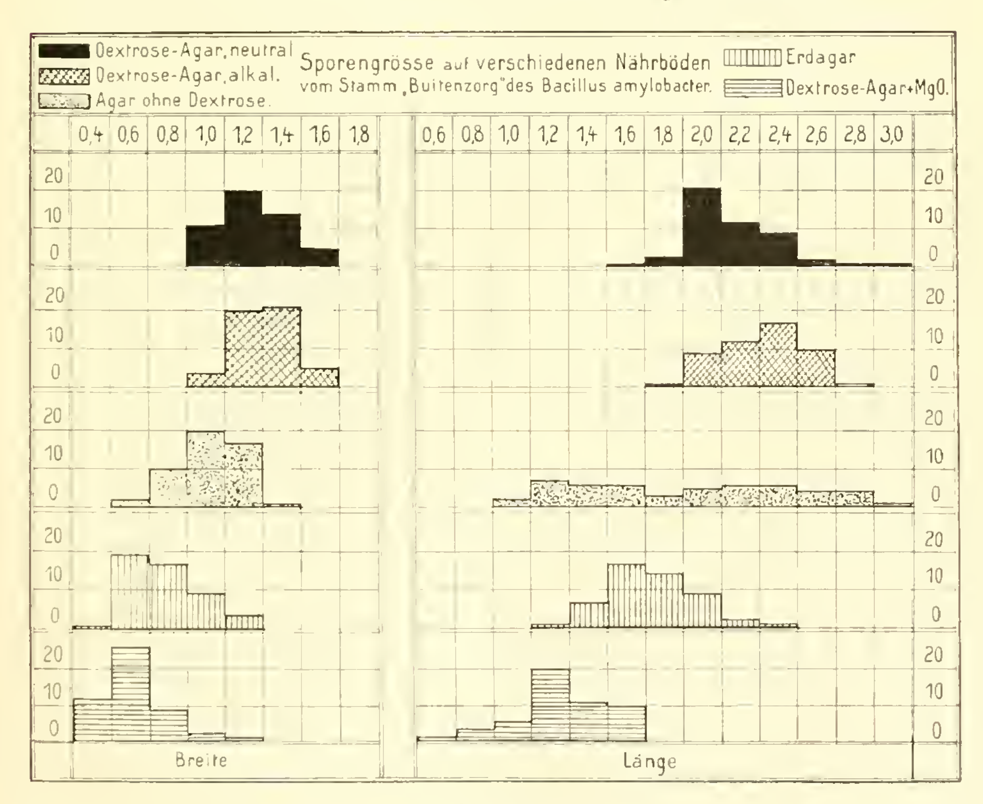


Fig. 39.

Hier entnimmt man ohne weiteres die Größenverschiebungen der Längen- und Breitenausmaße der Spore bei den verschiedenen angewendeten Nährsubstraten. Daraus ist auch weiter ersichtlich, wie unbedingt notwendig es ist, bei Maßangaben über Sporen- oder auch Bakteriengrößen alle näheren äußeren Bedingungen genauestens anzugeben, wenn die erhaltenen Zahlen brauchbar sein sollen.

Die endogenen Sporen der Bakterien zeigen einen einheitlichen

feineren Bau.

Im allgemeinen ist ein sehr stark lichtbrechender Plasmakörper von einer verhältnismäßig dicken und derben Zellhaut umgeben. Die Sporen nehmen nur sehr schwer die gebräuchlichen Anilinfarben auf, weshalb zu ihrer Darstellung besondere Färbungsmethoden zur Anwendung gelangen. Die reife freie Spore weist im allgemeinen keine Differenzierungen des **Zellinhaltes** auf, wenigstens konnten mit Sicherheit keine solchen aufgefunden werden. Wenn man von den Angaben über eine grüne Eigenfarbe der Sporen des sogenannten Kaulquappenbazillus und der grünen Sumpfwasserbakterien absieht, können die Sporen als farblose Gebilde aufgefaßt werden, an denen etwa auftretende Farbenerscheinungen den Lichtbrechungserscheinungen zugeschrieben werden müssen. Der Protoplast zerdrückter Sporen nimmt Anilinfarben gut an. An der Membran der verschiedenen Sporen ist allerdings in einigen Fällen eine Struktur und Schichtung zu beobachten. Eine ganze Reihe von Bakterienarten bildet Sporen mit doppelter Wand. Die innere bezeichnet man als Intine, die äußere als Exine. Letztere weist noch häufig an der äußeren Seite Leisten, Zähnchen oder Wärzchen auf. Nach Artur Meyer zeigt die beiden Membranteile besonders gut die Spore des Bacillus asterosporus, an der Längsleisten ausgebildet sind, die sehr oft noch feine Zähnchen aufweisen. In Figur 40 ist in *a* ein Querschnitt durch die Spore von Bacillus asterosporus schematisch abgebildet. Die mächtige Exine ist schwarz gehalten, während die zartere Intine hell ist. An der Exine erscheinen die Längsleisten als Höcker. Die äußere Oberfläche der Exine ist häufig auch nur mit kleinen Wärzchen und Körnchen besetzt oder vollständig glatt, wie es *b* der Figur 40 aufweist, wo eine Spore des Bacterium Petroselini Burchard im Längsschnitt dargestellt ist. Die doppelte Membran der Sporen dieser Bakterienart fällt hauptsächlich bei der Keimung auf, wo eine Sonderung beider Teile gut zu beobachten ist. Die Exine erscheint dabei dunkler als die Intine. Bei Färbungsversuchen an doppelt behäuteten Sporen nimmt die Farbe zuerst die Exine und dann die Intine allmählich auf, wobei ein besonderer Unterschied der Färbung kaum zu verzeichnen ist.

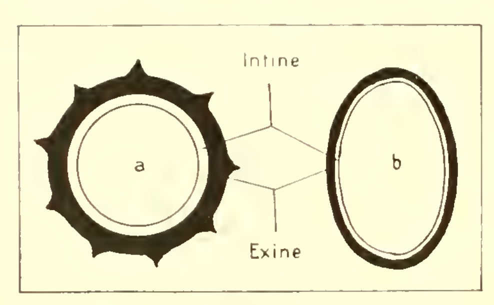


Fig. 40.

Aus den reifen Sporen gehen durch

Keimung

derselben neue Generationen vegetativer Zellen oder Oidien hervor. Im wesentlichen verläuft der Keimungsprozeß der Bakteriensporen gleich. Die Spore nimmt bei der Keimung Wasser auf, verliert allmählich ihr starkes Lichtbrechungsvermögen, vergrößert sich allseitig mehr oder weniger und treibt nach Sprengung oder Lösung der Sporenmembran das Keimstäbchen, aus dem durch Querteilung die vegetativen Zellen oder Oidien hervorgehen. In der Regel keimen die Sporen nach dem freiwerden aus dem Sporangium. An ihnen sind höchstens noch Sporangienreste vorhanden. Sporenkeimungen im Sporangium wurden beispielsweise am Spirillum endoparagogicum beobachtet, gehören aber zu seltenen Befunden. Die Keimung erfolgt immer nach einer kürzeren oder längeren Ruhepause unter dem Einflusse äußerer Faktoren. So muß das Substrat, in welchem die Spore keimen soll, genügend Wasser enthalten. Außerdem muß eine zuträgliche Temperatur herrschen. Für den Eintritt der Keimung von höchster Bedeutung, vielleicht ausschlaggebend sind die osmotischen Druckverhältnisse im Nährmittel. So kann eine erhöhte Kochsalzmenge selbst bei ungenügenden Nährböden eine Sporenkeimung einleiten, wie aus den Untersuchungen von Holzmüller zu entnehmen ist.

Zu Beginn der Sporenkeimung entstehen in der Spore sehr erhebliche Drucke, denen die Sporenwand nur bis zu einem gewissen Grade gewachsen ist. Schon in den ersten Stadien der Keimung schwellen die Sporen mehr oder weniger an. Gleichzeitig beobachtet man ein dünnerwerden der Membran an bestimmten Stellen. Diese Membranverdünnung kann ihre Ursache in einer Lösung desselben an bestimmten Stellen haben oder in einer stärkeren Dehnung der Haut an denjenigen Stellen, die von vornherein etwas weniger dick waren. Daß eine Dehnung der Haut infolge des sich immer mehr steigenden Druckes zustande kommt, ersieht man daraus, daß in zahlreichen Fällen die nach der Keimung abgestreifte Membran unverhältnismäßig klein ist gegenüber der maximal angequollenen aber noch geschlossenen Spore. Wahrscheinlich werden sehr oft beide Vorgänge, Lösung und Dehnung, nebenher gleichzeitig auftreten. Der Austritt des Keimstäbchens erfolgt demnach entweder nach Auflösung der Membran an einer Stelle der Spore oder nach einer Zerreißung der Sporenhaut. Diese Austrittsstellen sind nun für die einzelnen Bakterienarten ziemlich konstant und können mit der nötigen Vorsicht systematische Verwendung zur Charakterisierung und Unterscheidung der Bakterienarten finden. Übrigens tritt von außen her ebenfalls eine Lockerung der Sporenmembran auf, da man die keimenden Sporen nie so scharf umrandet sieht als die ruhenden.

Nach der Lage der Austrittsöffnungen für das Keimstäbchen an der Spore unterscheidet man eine polare, äquatoriale und schräge Keimung. Dabei ist aber auf die Wachstumsrichtung des Keimstäbchens zur Sporenlängsachse keine Rücksicht genommen. Bei kugeligen Sporen fehlen naturgemäß diese Unterscheidungen, sofern nicht ein Durchreißen der Sporenmembran in einer durch die Kugelmitte gehenden Ebene erfolgt, so daß nach der Keimung zwei halbkugelige Sporenhautreste übrigbleiben. Die Wachstumsrichtung des

Keimstäbchens muß bei der polaren Keimung immer mit der Längsachse der Spore zusammenfallen. Bei der äquatorialen Keimung kann die Wachstumsrichtung des Keimstäbchens senkrecht zur Längsachse der Spore stehen oder aber in ihrem Verlauf liegen.

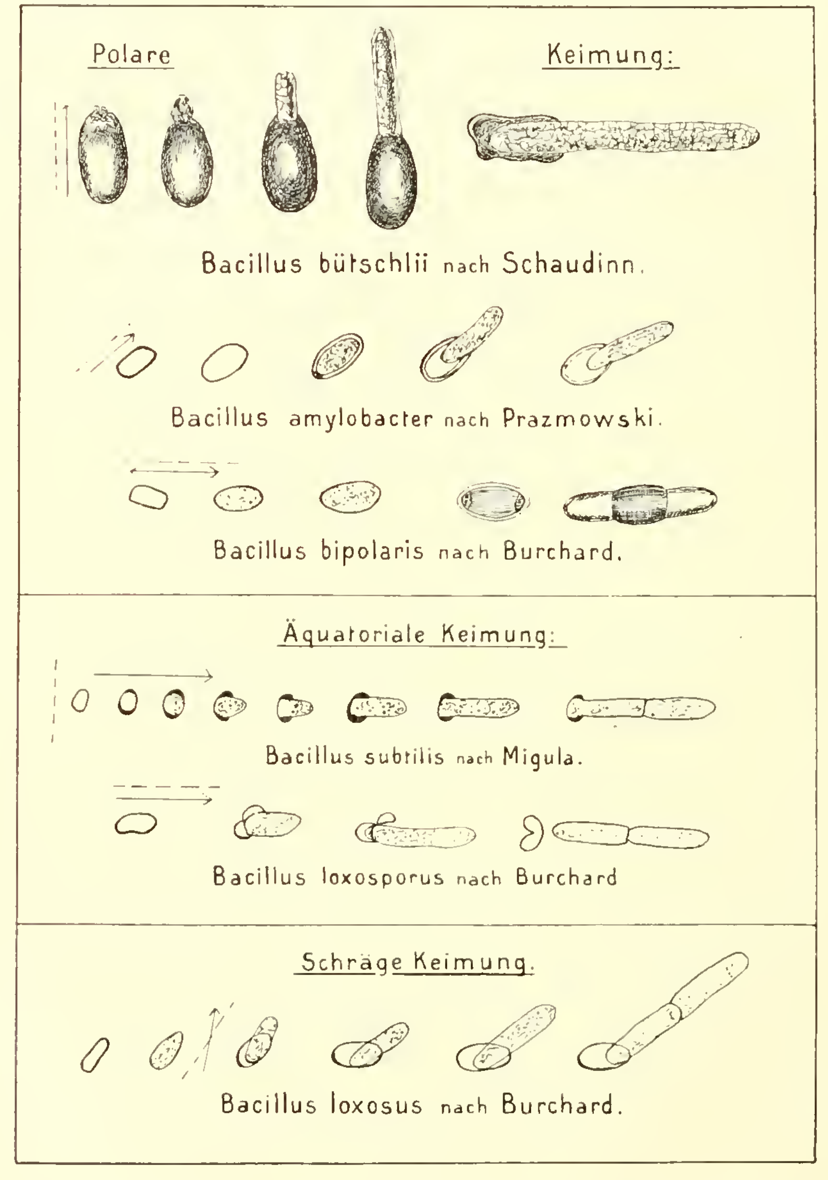


Fig. 41.

Nach dem polaren Typus keimen die meisten Bakteriensporen, viel weniger nach dem äquatorialen und sehr wenige nur nach dem schrägen.

In Figur 41 auf S. 60 sind Beispiele für die verschiedenen Keimungstypen zusammengestellt. Die Wachstumsrichtung der Keimstäbchen ist durch Pfeile angedeutet, während die Längsachse der Spore seitlich durch eine gestrichelte Linie markiert ist.

Die Spore von Bacillus bütschlii keimt nach den Untersuchungen Schaudinns rein polar. Dabei findet schon im ersten Beginn der Keimung eine Lösung der Sporenmembran an einem Pole statt. Hier tritt dann das Keimstäbchen aus. Bei den Sporen des Bacillus amylobacter scheint ebenfalls eine Lösung der polaren Membranteile aufzutreten, vielleicht auch eine teilweise Zerreißung. Dasselbe gilt für den Bacillus bipolaris, dessen Sporen in der Weise keimen, daß in der Regel ein gleichzeitiger Austritt des Keimstäbchens an beiden Polen erfolgt. Bei der äquatorialen Keimung tritt ebenfalls zu Beginn des Vorganges eine Verdünnung der Sporenmembran am Äquator der Spore auf, wie es deutlich an den Sporen des Heubazillus zu bemerken ist. Hier bricht das Keimstäbchen durch, wobei allerdings ein Aufreißen der dünnen Membran erfolgt. Etwas ähnliches zeigt auch der Bacillus loxosporus, nur wächst das Keimstäbchen hier in der Längsachse der Spore aus, wie es durch den Pfeil und die gestrichelte Linie in der Figur 41 angedeutet ist. Für die schräge Keimung ist ein Beispiel die Spore des Bacillus loxosus. Bei ihr tritt das Keimstäbchen zwischen den Polen und dem Äquator aus. Die Wachstumsrichtung desselben bildet mit der Längsachse der Spore einen schiefen Winkel.

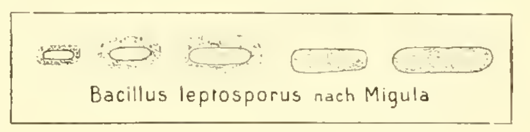


Fig. 42.

Beim ersten Anblick rätselhaft erscheint das Hervorgehen des Oidiums oder der vegetativen Form beim Bacillus leptosporus. Hier findet nur eine Verquellung der Spore bei der Keimung statt, wie es in der Figur 42 nach Migula wiedergegeben ist. Ohne merkbare Keimstäbchenbildung geht anscheinend die vegetative Form hervor. Es dürfte sich aber auch hier sicherlich um eine echte Keimung mit Keimstäbchenbildung handeln. Bei der Ausbildung des letzteren wird aber die Sporenwand allmählich gelöst, während das junge Stäbchen neubehäutet zum Vorschein kommt und sich weiterhin als die vegetative Form repräsentiert.

Die feineren morphologischen Erscheinungen bei der Sporenkeimung sind bei den einzelnen Bakterienarten ziemlich gleich. Wie schon gesagt schwillt die Spore unter Wasseraufnahme an und verliert dabei ihr starkes Lichtbrechungsvermögen. In vielen Fällen findet zugleich eine Verdünnung der Sporenwand durch Lösung und Dehnung an bestimmten Stellen der Spore statt. Bei der weiteren ällmählichen Vergrößerung der Spore tritt dort das Keimstäbchen aus. Das Plasma desselben ist häufig hyalin, wenig lichtbrechend oder sehr fein gekörnt. Nachdem es etwa die doppelte Bazillenlänge erreicht hat, wird die erste Querwand ausgebildet und die beiden gleich großen Teilprodukte entsprechen bereits den Oidien oder vegetativen Formen. Die leeren Sporenhäute werden entweder in der Kultur rasch aufgelöst oder bleiben noch längere Zeit hindurch an dem einen oder den beiden ersten Oidien haften, Erscheinungen, die ebenfalls in der Figur 41 dargestellt sind. Die ver-

schiedenen Plasmadifferenzierungen bilden sich am Keimstäbchen und den jungen Oidien ebenfalls schon sehr früh aus.

Am Schlusse der Besprechung der Sporenkeimung darf die sog. erschwerte Sporenkeimung nicht unerwähnt bleiben, die sich bei einigen Bakterienarten nur selten, bei anderen dagegen häufig einstellt. Sie findet sich bei der äquatorialen Keimung, wo also ein äquatorialer Riß für den Durchtritt des Keimstäbchens entsteht. Fällt die Wachstumsrichtung des letzteren nun mit der Sporenlängsachse zusammen, so wird der Druck beim Wachstum des Keimstäbchens auf die polaren, nicht verdünnten Zellwände ausgeübt. Reißt in der Folge die Sporenmembran am Äquator nur an einer Stelle ein, so wird sich dort der mittlere Teil des Keimstäbchens herausbiegen, während die Enden noch in den Polkappen sitzen. In Figur 43 sind diese Verhältnisse schematisch dargestelit. In *a* dieser Figur ist eine äquatorial keimende, bereits gequollene, und unmittelbar vor dem Platzen stehende Spore abgebildet. Äquatorial ist die Sporenwand schon sehr dünn, während an den beiden Polen dieselbe noch sehr dick vorhanden ist. Die Wachstumsrichtung des noch eingeschlossenen Keimstäbchens stimmt mit der Sporenlängsachse überein., markiert durch die gestrichelte Linie. Der durch das wachsende Keimstäbchen hervorgebrachte Druck in der Spore steigt in der Folge immer mehr und schließlich reißt die Sporenwand dort, wo sie am dünnsten ist, also am Äquator, ein. Durch die Rißstelle biegt sich nun die Breitseite des Keimstäbchens heraus, wie es *b* darstellt, während die beiden Enden desselben in beiden noch zusammenhaltenden Sporenmembranteilen gefangen bleiben. Das Keimstäbchen schiebt sich immer weiter heraus, wie es *c* zeigt, bis an der Umbiegungsstelle desselben eine Querwand entsprechend der punktierten Linie eingeschaltet und eine Teilung vollzogen ist, deren Produkte wir in *d* sehen. Es fallen in der Folge die an einem Pol wie Kappen noch sitzenden Membranreste ab und die weiteren Teilungen vollziehen sich glatt. In *e* derselben Figur ist wieder eine äquatorial keimende Spore vor dem Durchbruch des Keimstäbchens abgebildet; auch hier ist die Sporenwand am Äquator sehr verdünnt. Das Keimstäbchen wächst wieder in der Längsrichtung der Spore entsprechend der gestrichelten Linie. Sobald der Innendruck eine Größe erreicht, der die verdünnte Wand nicht mehr zu wiederstehen vermag, reißt in diesem Falle die Membran längs des ganzen Äquators durch. Es kann in diesem Flale nicht zu einer Krümmung des jungen Keimstäbchens kommen. Die beiden Sporenmembranreste sitzen einfach den Enden des Keimstäbchens an, wie es *f* zeigt. Später teilt sich das Stäbchen entsgrechend *g* und die Tochterzellen verlieren endlich die Sporenhautreste.

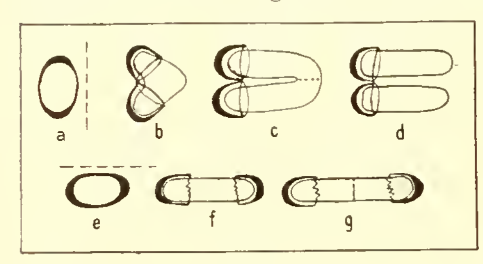


Fig. 43.

Wir finden nur bei verhältnismäßig wenigen Bakterienarten die besprochenen Endosporen. Bei den höher organisierten Scheidenbakterien fehlen sie gänzlich. Hier kommt es nur zur Ausbildung sogenannter

Konidien.

Dieselben haben weder morphologisch noch physiologisch mit den Sporen der Bakterien etwas gemein. Wir können sie nicht einmal als Dauerform bezeichnen, da sie keinen Ruhezustand im Entwicklungskreis dieser Bakterien vorstellen, sondern lediglich zur Vermehrung der Art dienen. Sie sind dementsprechend auch keineswegs resistenter als die anderen Formen. Sie werden auch nicht durch eine freie Zellbildung in einer Zelle hervorgebracht, sondern entstehen unmittelbar durch Umwandlung aus einer beliebigen Zelle des Bakterienfadens, die dabei frei wird.

Die Konidien zeigen auch keinen Keimungsprozeß. Sie werden, wie schon gesagt, nur von den Scheidenbakterien ausgebildet, die sich immer nur im Wasser vorfinden, teils in stehendem, teils in fließendem. Die meisten von ihnen sind seßhaft, d. h. ihre Fäden sitzen an Steinen

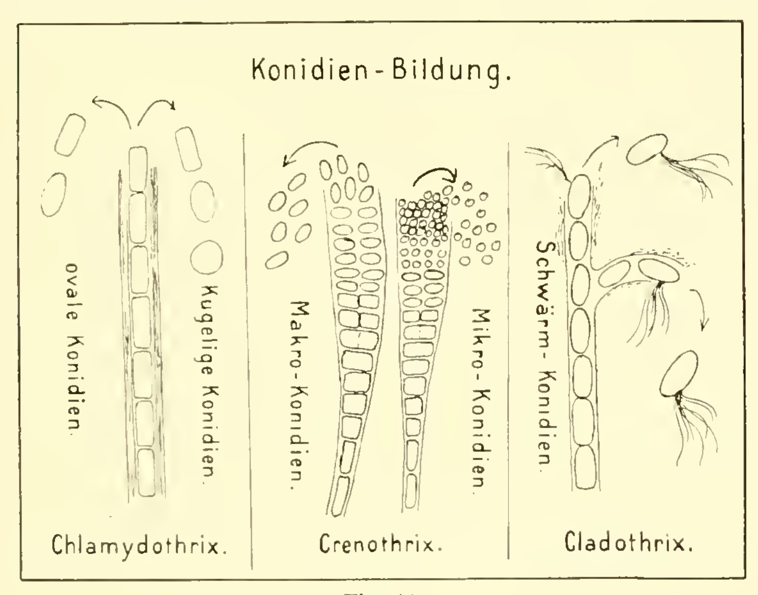


Fig. 44.

und dergleichen mit einem Ende fest. Aus dem anderen Fadenende treten die Konidien aus und werden dann entweder durch den Wasserstrom weiterbefördert oder bekommen Geißeln, mit denen sie sich aktiv im Wasser fortbewegen. Die letztere Art beweglicher Konidien bezeichnet man auch als „Schwärmer“ oder „Schwärmkonidien“. Nach einiger Zeit des Schwärmens oder der passiven Weiterbeförderung im Wasser setzen sich die Konidien fest und wachsen durch Querteilung und Ausbildung einer Scheide zu neuen Fäden aus. Sowohl die Konidienbildung als auch die Konidien selbst sind bei den einzelnen Scheidenbakterienarten verschieden.

Einen Überblick über diese Verhältnisse gibt die schematische Darstellung der Figur 44. Bei Clamydothrix, unverzweigt wachsenden Scheidenbakterien, entstehen die Konidien durch Austritt der Fadenglieder aus der offenen Scheidenmündung. Die freigewordenen Zellen

runden sich zu ovalen oder kugeligen Gebilden ab. Etwas anders verläuft die Konidienbildung bei der Crenothrix polyspora, dem sog. Brunnenfaden. Hier verbreitert sich der Zellfaden dort wo am Ende die Konidien auftreten, wie es in Figur 44 angegeben ist. Die einzelnen Zellen werden breiter, runden sich ab und treten dann als sog. „Makrokonidien" aus der freien Scheidenmündung oder es erfolgt vor der Rundung und dem Austritt noch eine Teilung der Zelle. Diese Teilung vollzieht sich aber durch Einfügung einer Wand, die parallel mit der Fadenachse gestellt ist. Die Chrenothrix bildet aber auch „Mikrokonidien" aus. Dieselben entstehen ebenfalls aus den obersten Zellen des Fadens. Dieselben werden dabei durch Scheidewände nach allen drei Richtungen des Raumes in kleine Tochterzellen geteilt. Hierauf treten diese aus der Scheide aus. Beide Arten Konidien dienen der Vermehrung der Art und haben bisher in ihrem physiologischen Verhalten und in ihrer weiteren Entwicklung keine Verschiedenheiten erkennen lassen. Auch diese Konidien sind nicht eigenbeweglich.

Bewegliche Konidien erzeugt Cladothrix dichotoma, eine sehr häufig vorkommende Wasserfadenbakterie. Hier werden oft ganze Reihen oberster Fadenglieder durch Zerfließen der Scheide frei und bekommen gleichzeitig ein seitlich an der Zelle entspringendes Geißelbüschel, wie es ebenfalls in Figur 44 zur Anschauung gebracht ist. Diese Schwärmkonidien sind entweder oval oder mehr zylindrisch gestaltet. Nach dem Freiwerden schwimmen sie lebhaft in der Flüssigkeit herum.

Bei der zur Gattung der „Schwefelbakterien" gehörigen Thiothrix, einer fadenbildenden und dünn bescheideten Bakterie, werden ebenfalls bewegliche Konidien frei, die sich aber nicht durch Geißeln bewegen, sondern kriechende Bewegungen ausführen. Hier werden nicht nur einzelne Zellen aus dem Verbande frei, sondern auch kürzere, nur aus wenigen Einzelzellen bestehende Fadenstücke, deren einzelne Zellen sich aber nur in einem sehr losen Verbande befinden. Sie bewegen sich durch Biegungen der Zelle vorwärts, ähnlich wie die Beggiatoen und Oszillarien (blaugrüne Algen).

Nachdem sich die Konidien einige Zeit in der Flüssigkeit frei befunden haben, setzen sie sich mit einem Ende an einer Unterlage fest. Dabei wird eine Kittmasse oder ein Klebestoff ausgeschieden. Sie vermehren sich weiterhin durch Querteilung, wie die übrigen Bakterien und bilden dabei wieder die langen bescheideten Fadenverbände aus.

Anhangsweise seien hier auch die früher vielfach beschriebenen „Athrosporen" erwähnt. Sie sollen einfach durch Umwandlung der vegetativen Zelle in eine Dauerzelle zustande kommen und nach der Meinung einiger Untersucher überall dort vorkommen, wo die zuerst beschriebenen endogenen Sporen fehlen. Dabei handelt es sich aber nicht um eine Zellbildung in der Zelle. Die vegetative Zelle erhält höchstens eine etwas verdickte Membran. Besonders von Kugelbakterien sind Arthrosporenbildungen häufig beschrieben worden, wie bei dem schon genannten Leuconostoc (Streptococcus) mesenterioides, dem Froschlaichbakterium. Hier findet man in der Tat in dem Verlaufe der Kugelkette eingeschaltet bedeutend vergrößerte Kugeln, denen man Sporencharakter beilegte und die man als Arthrosporen bezeichnete. Ihnen fehlt aber das erste und wichtigste Sporenmerkmal, die Keimfähigkeit. Kein Forscher hat jemals die Keimung einer solchen Kugel gesehen. Wenn wir ehrlich

sein wollen, müssen wir gestehen, daß wir die Natur dieser Gebilde nicht näher kennen. Wir wissen nur soviel, daß sie mit den endogenen Sporen nichts gemeinsam haben. Sie sind höchstens mit den bei Zyanophyzeen vorkommenden „Grenzzellen" oder „Heterozysten" zu vergleichen, deren Bedeutung aber ebenfalls noch nicht klargestellt ist. Vorläufig tun wir besser, den Ausdruck Arthrospore aus der Bakteriologie gänzlich zu entfernen.

Literatur zur Vorlesung IV und V.

Hutchinson, H. B., Über Form und Bau der Kolonien niederer Pilze. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 17, 1907.

Bredemann, G., Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 23. S. 383, 1909.

Ders., Untersuchungen über die Variation und das Stickstoffbindungsvermögen des Bacillus asterosporus A. M. usw. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 22, S. 44, 1909. Hier Sporenbildung, Sporengröße usw.

Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903.

Fuhrmann, F., Entwicklungszyklen bei Bakterien. Beihefte zum botan. Zentralbl., I. Abt., Bd. 23, 1908.

Migula, W., in Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 29.

Ambrož, A., Entwicklungszyklus des Bacillus nitri sp. n., als Beitrag zur Cytologie der Bakterien. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 51, S. 193, 1909. Hier viel Literatur.

Meyer, A., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903.

Schaudinn, Fr., Beiträge zur Kenntnis der Bakterien. Arch. f. Protistenk., Bd. 1, S. 306, 1902.

Garbowski, L., Über einen extrem verkürzten Entwicklungsgang bei 2 Bakterienspezies. Biolog. Zentralbl., Bd. 27, S. 707, 1907.

SECHSTE VORLESUNG.

Chemie des Bakterienleibes.

Die chemische Erforschung des Bakterienleibes bietet dem Untersucher die allergrößten Schwierigkeiten, da nicht nur die Gewinnung des nötigen Materiales für genaue quantitative Analysen durchaus nicht leicht sondern auch die Reinigung desselben von den anhaftenden Nährbodenbestandteilen ohne Verluste an Zellbestandteilen sozusagen unmöglich ist. Außerdem wird die Zusammensetzung der Bakterien von ihrem Alter und ihrem momentanen Entwicklungszustand abhängig sein, weshalb es für die axakte chemische Erforschung äußerst notwendig ist, gleichalterige Individuen zur Analyse heranzuziehen. Diese Forderung ist aber bei der Anwendung makrochemischer Methoden unerfüllbar. Über die chemische Zusammensetzung der Mikroorganismen werden wir erst mit der Einführung der Mikrochemie in die bakteriologischen Untersuchungsmethoden völlig einwandsfreie Daten erhalten. Die Mikrochemie wird übrigens gerade in den letzten Jahren von verschiedenen Forschern eingehend bearbeitet und es ist große Aussicht vorhanden, daß dieselbe uns schon in der nächsten Zeit auch für die quantitative Untersuchung der Bakterien die besten Dienste leisten wird, was die in Emichs Lehrbuch der Mikrochemie gebrachten Methoden ohne für die besonderen Zwecke der Bakterienforschung zugeschnitten zu sein, sicher erwarten lassen.

Der Bakterienleib ist außerordentlich wasserreich. Das Wasser spielt ja auch für die Aufnahme der Nahrungsstoffe und die Abgabe der Ausscheidungsprodukte die allergrößte Rolle. Die Bakterien sind überhaupt für ein Leben im Wasser oder zumindest sehr wasserreichen Nährmedien eingerichtet, was sich naturgemäß auch in einem größeren Wasserreichtum der Zellsubstanz wiederspiegeln muß. Der

Wassergehalt

der einzelnen Bakterienarten zeigt nur geringe Unterschiede, wie aus den wenigen älteren und neueren Bestimmungen hervorgeht. Im folgenden sind die wichtigsten diesbezüglichen Angaben tabellarisch zusammengestellt.

Tabelle siehe S. 67.

Schon aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß der Wassergehalt der Bakterien ein sehr hoher ist. Er fällt im allgemeinen mit zunehmendem Alter der Kultur. Er ist aber auch bei ein und derselben Art unter verschiedenen Kulturbedingungen verschieden.

Bakterienart	Wassergehalt in Proz.	Autor
Fäulnisbakterien in verschiedenem Alter	84,81 84,26 83,42	Schaffer
Bacillus prodigiosus	85,45	Kappes
Bacillus xerosis	84,93	Kappes
Bacterium pneumoniae	84,20	Brieger
Proteusbakterien	83,60	Rubner
Milzbrandbakterien	80,00	Dyrmont
Tuberkulosebakterien	74,00—88,80	Hammerschlag
Bacterium mallei	75—78	Kresling
Bacterium mallei	76,5	Nicolle und Alilaire 1909
Choleravibrionen	73,4	Nicolle und Alilaire 1909
Proteus vulgaris	80,0	Nicolle und Alilaire 1909
Bacterium pneumoniae	85,5	Nicolle und Alilaire 1909
Bacillus prodigiosus	78,0	Nicolle und Alilaire 1909
Bacillus pyocyaneus	75,0	Nicolle und Alilaire 1909

Wassergehaltsbestimmungen von Bakteriensporen wurden meines Wissens nur an Milzbrandsporen ausgeführt. Dyrmont gibt für sie einen Wassergehalt von 85,4 Proz. an. Es dürfte diese Angabe kaum der Wirklichkeit entsprechen, da die in den zerfallenen und stark verquollenen Resten des Sporangiums eingebetteten Sporen gewiß nicht allein zur Wägung gelangten und jene Nebenbestandteile sehr wasserreich sind. Aus den Bestimmungen des spezifischen Gewichtes von Sporen, die Almquist an Heubazillensporen ausführte, ist vielmehr ein sehr geringer Wassergehalt der Dauerformen wahrscheinlich.

Mit wenigen Ausnahmen sind die Forscher darin einig, daß der

Aschengehalt

der Bakterien ein sehr schwankender ist. Er ist hauptsächlich abhängig von demjenigen des Nährsubstrates, wie folgende aus Kruses Mikrobiologie entnommenen Zahlen nach den Untersuchungen Cramars an Choleravibrionen es dartun:

	Soda-Bouillon	Phosphat-Bouillon	NaCl-Bouillon
Aschegehalt der Bakterien in der Trockensubstanz	9,3 Proz.	22,3 Proz.	25,9 Proz.
Aschegehalt in der feuchten Bakterienmasse	1,34 „	2,75 „	3,73 „
Aschegehalt des Nährbodens in der feuchten Masse	1,25 „	2,50 „	4,12 „

Man sieht sofort, daß mit steigendem Aschegehalt des Nährsubstrates auch ein Ansteigen des Aschegehaltes der darin wachsenden Bakterien erfolgt. Die Zunahme der Asche geschieht bei diesen Bakterien fast streng gesetzmäßig mit dem Ansteigen der Asche des Nährbodens.

Im allgemeinen ist der Aschegehalt der Bakterientrockensubstanz keine konstante Größe. So finden wir nach den Angaben von Hammerschlag für Tuberkulosebakterien einen Aschegehalt von 8 Proz., nach denjenigen von Schweinitz und Dorset einen solchen von nur

1,77—1,92 Proz. Cramer gibt für Choleravibrionen einen Aschegehalt von 8 bis 30 Proz. der Trockensubstanz an, wozu allerdings bemerkt sein muß, daß dieselben auf verschiedenen oben genannten Fleischbrühen gezüchtet worden waren. Nach Kappes hat die Trockensubstanz von Bacillus prodigiosus 13,47 Proz. und diejenige des Bacillus xerosis 9,52 Proz. Asche.

Analysen der Bakterienasche

liegen ebenfalls vor. Aus denselben entnehmen wir, daß die Bakterienasche vornehmlich Phosphor und Kalium enthält, dann in geringerer Menge bis in Spuren Kalzium, Magnesium, Silizium, Eisen, Mangan, Aluminium, Jod, Chlor und Schwefel. Daß der Schwefel beim Glühen der Asche in Gegenwart der großen Phosphorsäuremengen in der Asche ganz verschwindet oder sehr zurücktritt, darf ja nicht Wundernehmen, da er dabei eben als freie Säure weggeht. Aus diesem Schwefelmangel der Asche darf keineswegs das Fehlen desselben im lebenden Bakterienorganismus geschlossen werden. Die Schwefelbakterien enthalten natürlich große Mengen von Schwefel. Der Natriumgehalt ist ebenfalls großen Schwankungen unterworfen und wird naturgemäß in den Seewasser bewohnenden Bakterien größer sein als in den Bakterien, die in ihrem Nährsubstrat nur wenig Natriumverbindungen zur Verfügung haben. Der Eisengehalt ist gewöhnlich sehr gering und steigt nur bei den sog. „Eisenbakterien" beträchtlich an, da diese Scheidenbakterien in ihren Scheiden große Eisenmengen speichern. Das gleiche gilt für Mangan, welches bei den Eisenbakterien bis zu einem gewissen Grade ebenso gespeichert wird, wie das Eisen. In diesem Falle werden dafür auch hohe Werte auftreten, während sonst Mangan sich nur in Spuren findet. Jod wurde nur einmal beim Tetanusbazillus von Gautier in äußerst geringen Mengen nachgewiesen und findet sich auch in den Bakterien des Meeres.

Die folgende Zusammenstellung der Ascheanalysen von Bakterien nach Untersuchungen von Kappes, Schweinitz und Dorset, Romegialli und Cramer gibt einen Überblick über die Zusammensetzung der Asche verschiedener Bakterien.

Bakterienart	In Prozenten der Trockensubstanz								
	H_2O	Na_2O	CaO	MgO	F_2O_3	SiO_2	SO_3	P_2O_5	Cl
Bacterium aceti . . .	25,59	—	14,00	0,70	8,15	7,76	7.64	18,14	2,29
Bacillus prodigiosus .	11,50	28,00	4,00	7,00	—	0,50	—	38,01	5.00
Bacillus xerosis . . .	11.10	24,00	3,00	6,00	—	0,50	—	34,45	0.60
Choleravibrio	4—6	27—34	0,3—1,3	0,1—0,6	—	—	1—8	10—45	5—44
Tuberkulosebakterium	6,4	13,6	12,6	11,6	0,006—0,008	0,6	—	55,2	

Aus der Tabelle geht auch hervor, daß die Menge gewisser Elemente sehr großen Schwankungen unterliegt, wie es beispielsweise an dem vieluntersuchten Objekt Choleravibrio unter anderen ersichtlich ist. Auch für diese Schwankungen ist sicherlich der Gehalt des Nährsubstrates an den betreffenden Verbindungen und die Durchlässigkeit des Plasmas für dieselben von einschneidender Bedeutung. Dies zeigt sich zum Beispiel für die Chlor- und Phosphorverbindungen, wie nachstehende kleine Zusammenstellung nach Kruses Mikrobiologie dartut.

Bei einem Chlorgehalt der Asche
des Nährbodens von . . . . 23,0 Proz.: 11,4 Proz. und 49,2 Proz.
ergab sich für die Asche der Cholera-
vibrion ein Chlorgehalt von . 16,9 Proz.; 7,97 Proz. und 40,7 Proz.

Eine so schöne Übereinstimmung, wie wir sie oben bei der Trockensubstanzmenge gefunden haben, herrscht hier aber nicht mehr.

Noch weniger übereinstimmend sind die Daten bezüglich des Phosphorsäuregehaltes der Cholerabakterienasche bei Nährsubstraten mit verschiedenem P_2O_5-Gehalt.

Es ergeben sich folgende Werte dafür:

Bei einem Phosphorsäuregehalt der Asche
der Nährbouillon von . . . 7,9 Proz.; 39,8 Proz. und 2,1 Proz.
enthielt die Bakterienasche . . . 28,7 Proz.; 38,4 Proz. und 10,9 Proz.

Die Bakterien enthalten dann noch jederzeit in großer Menge:

Stickstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff nud Wasserstoff,

die in einer Reihe organischer Verbindungen das Protoplasma und die Zellhaut aufbauen.

Die Hauptmenge des Stickstoffes ist in den Eiweißkörperchen oder Proteinen des lebenden Plasmas vorhanden, nur ein verhältnismäßig geringer Teil in der Zellwand. Die Kohlenstoffverbindungen befinden sich vornehmlich in den Reservestoffen und in der Zellwand, wenn wir vom Proteinkohlenstoff vorläufig absehen.

Einen Überblick über die vorhandenen Mengen von Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff geben uns Elementaranalysen von Bakterien, die von einigen Forschern ausgeführt wurden. So ergab sich nach den Untersuchungen von Nencki und Schaffer an Fäulnisbakterien ein Gehalt von 53,1—53,8 Proz. C, 7,8 Proz. H und 13,8—14,3 Proz. N für die fett- und aschefreie Trockensubstanz. Nach Cramer's Elementaranalysen von verschiedenen Bakterienarten beträgt, auf aschefreie Trockensubstanz berechnet, die C-Menge 48,9—51,8 Proz., die H-Menge 6,5 bis 7,5 Proz. und die N-Menge 9,4—15,0 Proz. Nach den neuesten Untersuchungen Kutschers entfallen auf die fettfreie Trockensubstanz mit 2,6 Proz. Asche 50,18 Proz. C, 7,33 Proz. H und 9,87 Proz. N.

Über den Stickstoffgehalt der Bakterien liegen noch zahlreichere Angaben vor, von denen die neueren nach den Analysen von Nicolle und Alilaire hier teilweise wiedergegeben sind. Darnach beträgt der Stickstoffgehalt in Prozenten der Trockensubstanz bei dem Rotzbakterium 10,5; Cholerabakterium 9,8; Proteus vulgaris 10,7; Bacillus coli 8,3; Bacillus prodigiosus 10,5; Bacterium pneumoniae 10,4; Bacillus typhi 8,3; Bacillus pyocyaneus 9,8.

Aus diesen Zahlen unmittelbar den Eiweißgehalt der Bakterien durch die übliche Multiplikation mit dem Faktor 6,25 zu bestimmen, führt sicherlich zu Fehlresultaten, da die erhaltenen Werte entschieden zu hoch ausfallen. Es werden dabei eine Reihe stickstoffhaltiger Reservestoffe und Zellwandstoffe vernachlässigt, die aber berücksichtigt werden müssen. Aus diesem Grunde sind die meisten aller Analysedaten über die Menge der Eiweißstoffe von Bakterien nicht vollständig genau und nur unter Berücksichtigung dieses Fehlers zu gebrauchen.

Auch die Menge der Kohlehydrate schwankt bei den einzelnen Bakterienarten sehr bedeutend. Dies ist wohl einzusehen, da ja dieselben

als Reservestoffe in sehr verschiedener Menge in der Bakterienzelle gespeichert werden, wie schon bei der Besprechung der geformten Einschlüsse des Protoplasmas zur Genüge dargetan worden war. Das Gleiche gilt für die in den meisten Bakterien in gewissen Entwicklungszuständen und auch beim Absterben auftretender Fettsubstanzen, die keineswegs einheitlicher Natur sind. Auch die Menge der in Bakterien nachgewiesenen höheren Alkohole ist sehr verschieden.

Nach dieser mehr allgemeinen Orientierung über die elementare Zusammensetzung der Bakterienzelle wollen wir uns zunächst zuwenden der

Chemie der Bakterienzellwand.

Es war naheliegend, in früheren Zeiten die Bakterienwand entsprechend den Befunden an den Membranen der höheren Pflanzen als aus Zellulose gebildet anzusehen. Die eingehenderen Untersuchungen haben aber gezeigt, daß sich echte Zellulose in den Zellwänden der Bakterien, wenn überhaupt, nur in den seltensten Fällen findet. Wir haben es hier im allgemeinen mit komplizierten Körpern zu tun, die in den meisten Fällen auch Stickstoff enthalten.

Ganz allgemein gesprochen besteht die Wand der Bakterien in der Regel aus stickstoffreien und stickstoffhaltigen Membranstoffen.

Von den stickstoffreien Membranstoffen kommt die sonst im Pflanzenreiche weit verbreitete Zellulose kaum in Frage. Findet man doch nur wenige Angaben über einen Zellulosenachweis bei einigen Bakterien, der aber auch nur zuweilen gelingt.

Eine Essigbakterie, Bacterium xylinum, die kolossale Häute in Flüssigkeiten ausbildet, soll aus echter Zellulose aufgebaute Zellwände besitzen. Mit Recht bezweifelt man aber das Vorhandensein derselben, da die Zellwände dieser Bakterienart sehr zur Verschleimung neigen, was bei echter Zellulose nicht der Fall ist. Außerdem ist die Wand von Bacterium xylinum in Kupferoxydammoniak nicht löslich, aber langsam löslich in erwärmter konzentrierter Salzsäure, was darauf hindeutet, daß es sich in der Zellwand von Bacterium xylinum um eine Hemizellulose handelt.

Hemizellulose und gummiartige Membranstoffe finden sich in der Zellwand der Bakterien sehr häufig. Außerdem findet man weitverbreitet in der Bakterienzellwand fadenziehende Schleimstoffe, die oft in großen Massen abgeschieden werden und wohl immer als von der Zellwand entstanden anzusehen sind.

Die meisten näher untersuchten Bakterienwandschleime entsprechen der allgemeinen Formel $C_6H_{10}O_5$. Es gilt dies besonders für die von Harp untersuchten Schleimbakterien Bacillus gummosus und Micrococcus gummosus, deren Wand eine in Wasser lösliche Gummose ausscheidet. Auch der von Kramer untersuchte Bacillus viscosus sacchari und Bacillus viscosus vini bildet Schleimmassen derselben Zusammensetzung. Die fadenziehenden Schleime scheinen außerdem noch muzinartige Körper zu enthalten.

Genauere Untersuchungen liegen unter anderen über die Gallerte des Leuconostoc mesenterioides vor, aus denen hervorgeht das diese Dextran enthält, einen Körper, den auch Anderlik in der Gallerte eines anderen in der Zuckerfabrikation auftretenden Bakteriums fand.

Schardinger untersuchte den Schleim eines Rohrzucker vergärenden Bazillus. Nach der Verzuckerung desselben durch Kochen mit Salzsäure entstand eine stark reduzierende Lösung, die bei der quantitativen Zuckerbestimmung nach Allihn eine 79,6 proz. Galaktose oder 71,6 proz. Galaktan entsprechende Kupfermenge ergab. Ein aus diesem Schleim gewonnenes Kohlehydrat ergab bei der Elementaranalyse für die Formel $C_6H_{10}O_5$ berechnet: H = 6,17 und C = 44,44. Dieses Kohlehydrat zerfiel bei der Oxydation durch Salpetersäure in Schleimsäure und Oxalsäure. Beim Kochen mit Salzsäure entsteht ein stark CuO reduzierender Zucker, der polarisiertes Licht nach rechts dreht. Es ist der Schluß berechtigt, daß in diesem Kohlehydrat ein Galaktan vorliegt. Die fadenziehende Beschaffenheit des ursprünglichen Schleimes ist wohl auf die gleichzeitige Anwesenheit muzinartiger Körper zurückzuführen.

Die meisten Untersuchungen von Bakterienzellwänden ergab die Anwesenheit von Stickstoffverbindungen in denselben, die aber höchstens zu kleinen Teilen eiweißartiger Natur sind. Denn mit keinem Reinigungsmittel gelang es, den Stickstoff zu entfernen. Der stickstoffhaltige Membranstoff steht dem Chitin außerordentlich nahe. Letzteres bildet bekanntlich die harten Teile der Insekten, Spinnen und Krebse. Emmerling hat einem dem Chitin außerordentlich nahestehenden Körper tatsächlich in den Wänden des Bacterium xylinum nachgewiesen. Auch die erhaltenen Stickstoffwerte der Zellmembran anderer Bakterien lassen auf einen Chitingehalt derselben schließen.

Die von Iwanoff untersuchten Membranen des Bacillus pyocyaneus, Bacillus megatherium und Bacterium anthracis ergeben allerdings zu hohe Stickstoffwerte, weshalb auch die Anwesenheit geringer Mengen von Eiweißkörpern in der Zellhaut zahlreicher Bakterien mit Sicherheit anzunehmen ist.

Wenn wir in aller Kürze die Daten über die chemische Zusammensetzung der Bakterienzellhäute zusammenfassen, so finden wir in denselben in der Hauptmenge:

1. N-freie Membranstoffe

(Zellulose?) Hemizellulosen, Dextran, Galaktan,

2. N-haltige Membranstoffe

---

chitinartige Körper, eiweißartige Körper, muzinartige Körper.

Über die Zusammensetzung der Sporenmembranen sind wir derzeit nicht unterrichtet. Anhangsweise sei auch erwähnt, daß sich in den Zellmembranen der Bakterien sicherlich noch eine Reihe anderer Körper findet, wie hauptsächlich fettartige und wachsartige Stoffe, was besonders auch für die Sporenmembran gilt.

Die Chemie des Zellinneren

der Bakterien ergibt in erster Linie die Anwesenheit von Eiweißkörpern und ihnen nahestehenden Verbindungen, die zusammen das ausmachen, was wir lebendes Plasma nennen. Sie sollen auch zuerst besprochen werden.

Schon im Jahre 1884 hat Vandevelde im Bacillus subtilis und Nencki im Bacterium anthracis (Milzbrandbakterium) **Nuklein**

gefunden. Später wurden Nukleinverbindungen von anderen Forschern in Bakterien makrochemisch und mikrochemisch nachgewiesen.

Dabei müssen wir die echten Nukleinverbindungen von den unechten unterscheiden, die auch einen Phosphorgehalt aufweisen und von Hammarsten als Pseudonukleine, von Kossel als Paranukleine und in der Folge einfach als Nucleoalbumine bezeichnet worden waren. Alle echten Nukleinverbindungen sind dadurch charakterisiert, daß sich „Nukleinsäure“ abspalten läßt. Nukleinsäure ist ein Sammelbegriff, der entsprechend der Herkunft ziemlich verschiedene Körper umfaßt, die aber alle durch einen hohen Stickstoffgehalt und Phosphorgehalt ausgezeichnet sind. Die Pseudonukleine, die Cohnheim unter dem Namen „Phosphorglobuline“ zusammenfaßt, zeigen ausgesprochene sauere Eigenschaften und werden bei der Säurehydrolyse in Eiweißkörper und Phosphorsäure verlegt.

Echte Nukleinverbindungen und Nukleinsäure wurden bereits in zahlreichen Bakterien nachgewiesen und in einigen Fällen quantitativ bestimmt. Einige Beispiele sollen diese Verhältnisse illustrieren.

So fand Nishimura in Wasserbazillen eine Reihe von Xanthinbasen, die sich in der Trockensubstanz prozentisch folgendermaßen verteilen: 0,07 Proz. Xanthin, 0,14 Proz. Guanin und 0,08 Proz. Adenin. Hopoxanthin war nicht vorhanden.

Galeotti stellte aus Pestbakterien ein Nukleoproteid dar, das Guanin enthielt, und aus einem dem Ernst'schen Bacillus ranicida nahestehenden Bakterium ebenfalls ein Nukleoproteid mit einem N-Gehalt von 12 und Phosphorgehalt von 1—1,8 Proz.

Kresling wies in Rotzbakterien ebenfalls Guanin und Xanthin nach.

Aronson analysierte Diphtheriekulturen und erhielt daraus Nukleoproteide, die Xanthinbasen und Pentosen abspalten ließen, und wenig Nukleinsäure, die als Zersetzungsprodukte Xanthinbasen, Pentosen und Phosphorsäure ergab.

Iwanoff erhielt aus dem Bacillus pyocyaneus, Megatherium und Bacterium anthracis auch Nukleoproteide.

Stoklasa zerlegte die Zellen von dem stickstoffbindenden Azotobacter chroocecoum durch Magensaft, also Pepsinverdauung und erhielt 20 Proz. verdauliches Eiweiß und 80 Proz. unverdauliche Nukleine mit einem Stickstoffgehalt von 15,8 Proz. und einem Phosphorgehalt von 3,9 Proz.

Sehr eingehende Untersuchungen über die Nukleinverbindungen des Tuberkulosebakteriums verdanken wir unter anderen Ruppel. Er stellte daraus die „Tuberkulinsäure“ dar, die einer Nukleinsäure mit 9,4 Proz. Phosphor entspricht. Außerdem erhielt er noch Nukleoprotamin und Nukleoproteide. Der Menge nach verteilen sich diese Körper in 100 g der Trockensubstanz des Tuberkulosebakteriums folgendermaßen:

Tuberkulinsäure 8,5 g; Nukleoprotamin 24,5 g; Nukleoproteid 23,0 g.

Auch Pseudonukleine finden sich in den Bakterienzellen, wie die zahlreichen Angaben es dartun. So konnte Palladino-Blandini im Typhusbazillus ein Nukleoalbumin nachweisen. Kürzlich wurde von Nicolle und Alilaire aus Tuberkelbakterien ein „Bazillo-

kasein" gewonnen. Auch bei vielen anderen Analysen finden wir Körper, die sicherlich zu den Phosphoglobulinen Cohnheims zu rechnen sind.

Was die Lokalisation der Nukleine in der Bakterienzelle anlangt, so werden sie auch hier wie überall in den Kernen vornehmlich sitzen. Gewiß enthalten viele der sog. metachromatischen Körnchen echtes Nuklein oder bestehen unmittelbar aus Nukleinsäure, wie aus den Untersuchungen Arthur Meyers zu schließen ist. Sicherlich sind aber ein großer Teil derselben in die Gruppe der Phosphoglobuline und anderer eiweißartiger Körper zu stellen.

Neben den Nukleinen sind noch eine Reihe von Eiweißkörpern am Aufbau des lebenden Plasmas beteiligt. Dieselben zeigen einen sehr niedrigen oder gar keinen Phosphorgehalt und sind schwefelhaltig. Besondere Angaben darüber finden wir für die Bakterien nur selten. Erwähnt sei hier das Tuberkulosamin Ruppels. Außerdem werden sich in der Bakterienzelle sicherlich auch Vorstufen von Eiweißkörpern und Abbauprodukte derselben finden, vornehmlich Peptone und Albumosen, also komplexe Polypeptide, und Aminosäuren.

Außerdem finden sich in der Bakterienzelle noch andere stickstoffhaltige Verbindungen, wie Albuminoide, Keratin u. dgl., wie sie Ruppel im Tuberkulosebakterium nachwies.

Die Bakterienzelle enthält regelmäßig eine Reihe von **Reservestoffen** und **Kohlehydraten**, die im Haushalte der Zelle von der größten Bedeutung sind.

Die meisten Bakterien führen Glykogen, das dem tierischen Glykogen sehr nahe steht. Eine große Anzahl von Bakterien führt auch im Zellinneren stärkeähnliche Kohlehydrate und höchstwahrscheinlich auch einfachere Zucker. Letztere werden allerdings nicht gespeichert.

Weites enthalten die Bakterien fast immer größere oder geringere Mengen von **Fett** und wachsartigen Stoffen, die besonders am Tuberkulosebakterium eingehend untersucht sind; außerdem Cholesterin und Lezithin.

Die Fette der einzelnen Bakterienarten sind ziemlich verschieden zusammengesetzt und besitzen auch sehr verschiedene Schmelzpunkte, was auf den verschiedenen Gehalt an Fettsäuren und Fettsäureestern zurückzuführen ist. Eine sehr ausführliche Analyse des Tuberkulosebakterienfettes liegt von Kresling vor, nach der dieses Fett eine ganz eigenartige Substanz ist. Es dürfte sich um ein Gemisch sehr komplizierter Natur handeln, das im wesentlichen aus Neutralfetten, freien Fettsäuren, Fettsäureestern und höheren Alkoholen, wie Cholesterin und Lezithin besteht. Außerdem enthält es noch eine größere Menge von wasserunlöslichen Extraktivstoffen.

Ruppel fand in den Tuberkulosebakterien drei Arten von Fettstoffen. Der erste Fettkörper ist rot gefärbt und enthält viel freie Fettsäuren. Sein Schmelzpunkt liegt bei 55—60° C. Der zweite ist wachsartig, schmilzt bei 65° und ist nur schlecht verseifbar. Das dritte Fett besitzt einen bienenwachsähnlichen Geruch, ist auch sonst wachsartig und hat einen bei 65—70° liegenden Schmelzpunkt.

Nach den Untersuchungen Baudrans enthält die Trockensubstanz der Tuberkulosebakterien im ganzen 36—44 Proz. Fettstoffe, die sich mit den höheren Alkoholen folgendermaßen aufteilen lassen:

Cholesterin	5—7 Proz.	der Trockensubstanz.
Lezithin	6—7 „	
Olein	10 -12 „	
Stearin	15—18 „	

Diese wenigen Angaben aus der über diesen Gegenstand ziemlich reichlich vorliegenden Literatur werden genügen, die Kompliziertheit der Zusammensetzung der Bakterien darzutun. Dabei handelt es sich immer nur um Körper, die noch faßbar und mehr oder weniger rein darstellbar sind. Neben denselben finden wir aber noch eine große Menge Substanzen, die entweder nur als intermediäre Produkte des Stoffwechsels in kleinsten Mengen jederzeit vorhanden sind oder aber überhaupt noch nicht als chemische Individuen dargestellt sind und ihre Anwesenheit nur aus ihren Wirkungen auf die Umwelt erschließen lassen. Es sind die sog. Fermente oder Enzyme, die jede Zelle enthält.

SIEBENTE VORLESUNG.

Allgemeines über Enzyme. Eiweißspaltende Enzyme.

Unter Enzymen oder Fermenten verstehen wir eine von einer lebenden Zelle gebildete Substanz, die ohne in das Endprodukt der Reaktion selbst einzutreten, die Geschwindigkeit derselben vergrößert oder gegebenen Falles verkleinert, also ändert. Dabei vollzieht sich diese Wirkung ohne irgendwelchen Einfluß von Seite der Lebensvorgänge der Zelle selbst. Damit sind die Enzyme in die Kategorie der Katalysatoren eingereiht oder vielleicht denselben untergeordnet.

Kein Enzym wurde bisher als chemisches Individuum rein dargestellt oder gewonnen. Aus allen ihren Wirkungen und ihren Auftreten ist aber der Schluß berechtigt, daß sie kolloidale Natur besitzen. In dieser Hinsicht haben sie gemeinsame Eigenschaften mit Eiweißkörpern, ohne selbst solche zu sein. Je reiner sie in der Tat hergestellt werden, um so mehr verlieren sie die Eigenschaften echter Eiweißkörper und geben dann auch keine Eiweißreaktionen mehr.

Mit Ausnahme der echten Lipasen sind alle Enzyme in Wasser sehr leicht löslich und leicht löslich in sehr verdünnten Salzlösungen. Es handelt sich hier um Scheinlösungen eines Emulsionskolloides. Die Enzyme werden durch starken Alkohol, wenn auch nicht quantitativ, gefällt. Auch Ammonsulfat fällt in gesättigter Lösung die Enzyme. Feine Niederschläge und Eiweißfällungen usw. reißen die Enzyme ebenfalls mit.

Die Enzyme werden bei der Dialyse teils zurückgehalten, teils gehen sie durch die Membranen hindurch. Von großem Einfluß auf die Durchlässigkeit ist die Membran. In dieser Hinsicht verhalten sich die Enzyme aber sehr verschieden.

Alle Enzyme besitzen in hohem Grade die Fähigkeit, sich an feste Körper zu binden oder zu adsorbieren. Hier ist nun eine Adsorption auf mechanischem Wege anzunehmen und eine solche infolge eines bestimmten elektrischen Ladungssinnes. Vielfach werden beide Ursachen zusammenwirken, wie beispielsweise bei der Adsorption der Enzyme an Kohleteilchen. Die Beeinflussung der Adsorption durch den elektrischen Ladungszustand sehen wir schon, wenn wir als Adsorbens Koalin und Tonerde verwenden. An den anodisch wandernden Koalin werden nur Basen, an die kathodisch wandernde Tonerde nur Säuren gebunden. Das Enzym „Invertase“ wird nun nur von

der Tonerde gebunden, einerlei, welche Reaktion das Lösungsmittel aufweist, vom Koalin aber niemals. Es besitzt dieses Enzym also einen ausgesprochenen Säurecharakter. Anders liegt die Sache bei den meisten anderen Enzymen, die bei dieser Prüfung einen amphoteren Charakter aufweisen, wie die Eiweißkörper. Bei ihnen wechselt die Adsorption mit der Reaktion der Lösungsmittel.

Entsprechend der Definition der Enzyme haben wir ihre Wirkung als katalytisch anzusehen. Die Gesetze, nach denen diese erfolgt, decken sich auch mit jenen, die wir von den Katalysatoren kennen. Allen katalytischen Vorgängen ist die Eigentümlichkeit gemein, daß spontan verlaufende Reaktionen durch Zutun eines Katalysators in ihrer Geschwindigkeit eine Änderung erfahren. Es wird also die Reaktionsgeschwindigkeit geändert, entweder beschleunigt oder verzögert. Bei den Enzymen tritt die Beschleunigung oder positive Katalyse in den Vordergrund. Weder das Enzym noch der Katalysator sind dabei an eines der entstehenden Endprodukte gebunden.

Die Enzyme vermögen ebensowenig eine Reaktion auszulösen wie die Katalysatoren, sie ändern, wie schon gesagt, nur die Reaktionsgeschwindigkeit von freiwillig in Gang befindlichen Reaktionen, die ohne ihr Zutun in vielen Fällen in fast unmeßbar langer Zeit einen Endzustand erreichen würden. Niemals führen Enzyme einer Reaktion Energie zu.

Nach van t' Hoff können aber nur solche Vorgänge freiwillig eintreten, bei denen Arbeit geleistet wird. Auch nur sie können deshalb enzymatisch, bezw. katalytisch, beschleunigt werden. Im allgemeinen wird bei allen exothermisch verlaufenden Prozessen Arbeit geleistet, doch wurden auch endothermisch verlaufende Vorgänge bekannt, die sich unter Leistung von Arbeit abspielen. Allgemein begünstigen hohe Temperaturen das freiwillige Eintreten von endotherm verlaufenden Vorgängen, niedrige Temperaturen dasjenige von exothermen Vorgängen.

Damit hängt die endgültige Gleichgewichtseinstellung zusammen.

Bei allen Reaktionen, die ohne Wärmeänderungen verlaufen, erfolgt die Einstellung des Gleichgewichtszustandes nach dem Gesetze von Guldberg und Waage, ist also allein abhängig von der relativen Konzentration der einzelnen Teilverbindungen des reagierenden Gemisches. Dabei ist es ohne Belang, bei welcher Temperatur die Reaktion vor sich geht, denn diese kann nur auf die Geschwindigkeit der letzteren einwirken.

Sobald es sich aber um Vorgänge mit Wärmeumsetzungen handelt, wird die Temperatur, bei denen die Umsetzungen erfolgen, einen wesentlichen Einfluß auf den Endzustand ausüben. Bei gewöhnlicher Temperatur exotherm verlaufende Vorgänge, die keinen Gleichgewichtszustand erkennen lassen, können bei sehr hohen Temperaturen entgegengesetzte endotherme Reaktionen eingehen, so daß auf diese Weise ebenfalls ein Gleichgewichtszustand hergestellt wird, der bei niederer Temperatur aber wegen des unmeßbar langsamen Verlaufes der entgegengesetzten Reaktion nicht merklich vorhanden ist. Dieselben müssen dennoch katalytisch beschleunigt werden können.

Es ist demnach eine theoretische Forderung, daß die enzymatisch beschleunigten Reaktionen auch umkehrbar oder reversibel sind. In

der Tat erfüllen die Enzyme diese Forderung, wie aus mehreren Untersuchungen hervorgeht. Mit Hilfe der Enzyme können also auch Synthesen ausgeführt werden, was für die Wirkung der ausschließlich in der Zelle tätigen Enzyme beim Aufbau der Leibessubstanz von der allergrößten Bedeutung ist.

Entsprechend den Gesetzen der Katalyse führen katalytisch beeinflußte Vorgänge zu einem Gleichgewichtszustande, der durch den Katalysator nicht verändert werden kann, da er die dazu erforderliche Energie nicht zu liefern vermag. In unseren Fällen ist das Enzym der Katalysator. Betrachten wir aber enzymatisch beeinflußte Vorgänge genauer, so finden wir, daß nur in den seltensten Fällen ein echter Gleichgewichtszustand erreicht wird. Gewöhnlich steht der Prozeß viel früher still. Daß es sich tatsächlich um keinen echten Gleichgewichtszustand handeln kann, geht aus dem Umstande hervor, daß eine erneute Zugabe von Enzym die Reaktion sofort wieder in Gang bringt und den Gleichgewichtszustand weiter verschiebt. Da es nun in ein und demselben Reaktionsgemisch nicht mehrere Gleichgewichte gibt, so kann der durch die Enzymwirkung rasch erreichte Endzustand gar nicht ein echtes Gleichgewicht sein. Wir haben es hier mit sog. „falschen Gleichgewichten" zu tun. Deshalb steht auch ohne erneute Enzymzugabe die Reaktion nicht still, sondern verläuft wieder so langsam weiter, wie zuvor ohne Zutun des Enzymes. Es würde dann erst nach einer außerordentlich langen Zeit der echte Gleichgewichtszustand erreicht werden.

Dies gilt natürlich nur dann, wenn eine Behinderung des Enzymes oder eine Schädigung desselben im Verlaufe der Reaktion eintritt und nicht etwa eine Veränderung der reagierenden Substanz selbst.

Das Nachlassen der Enzymwirkung vor Erreichung des wahren Endzustandes kann nun die verschiedensten Ursachen haben, die wir heute noch nicht einmal streng von einander unterscheiden können. Im allgemeinen kann man alle jene Momente, die hindernd in den Gang der enzymatisch beinflußten Reaktion eintreten, mit Oppenheimer als **Paralysatoren** zusammenfassen. Für dieselben ist es einerlei, ob sie nur hemmend in den Gang eingreifen ohne Schädigung des Enzymes selbst oder letzteres schwächen und vernichten. Das Wie der Behinderung kennen wir kaum genügend. Wir beobachten allerdings im Verlaufe der Wirkung eine Reihe von Erscheinungen, die wir aber jetzt wenigstens nicht streng auseinander halten können. Nach Bayliss werden die **hindernden Momente** in folgende Gruppen eingeteilt:

1. Reversibilität des Vorganges.
2. Bindung zwischen Enzym und Spaltprodukten } reversible Inaktivierung des Enzymes.
3. Negative Autokatalyse }
4. Zerstörung, überhaupt irreversible Inaktivierung des Enzymes.

Alle reversibel hindernden Paralysatoren schädigen das Enzym selbst nicht und behindern es nur in seiner Wirkung. Die meisten entstehenden Spaltungsprodukte scheinen in diesem Sinne zu hindern.

Wenn gleichzeitig mehrere Enzyme tätig sind, wie es ja in der Zelle immer der Fall ist, so können oft durch die Tätigkeit des einen Abbauprodukte entstehen, die die Wirkung des anderen gänzlich aufheben oder es sogar zerstören. Auch beim Auftreten unlöslicher Spaltprodukte

können diese bei ihrem Ausfallen durch mechanische Adsorption das Enzym mitreißen und so unwirksam machen.

Von den Paralysatoren im allgemeinen müssen wir die „spezifischen Paralysatoren“ trennen. Es sind dies von Zellen gebildete Stoffe, die in einseitiger Weise nur ein bestimmtes Enzym inaktivieren. Man bezeichnet sie auch als Antienzyme oder Antifermente. Dieselben sind für die meisten Enzyme bekannt geworden und entstehen im Blute des Tieres, wenn die enzymhaltigen Substrate demselben eingespritzt werden.

Es gibt aber auch eine Reihe von äußeren Einflüssen, die imstande sind, eine Förderung der Enzymwirkung herbeizuführen. Sie faßt man als Aktivatoren am besten zusammen. Hier spielt die positive Autokatalyse anscheinend eine Hauptrolle. Wir haben aber auch „spezifische Aktivatoren“, die ebenfalls als Zellprodukte aufzufassen sind. Sie sind häufig thermostabil. Man bezeichnet sie als Kinasen oder Ko-Enzyme. Die Kinasen bewirken eine unmittelbare Aktivierung des noch nicht wirksamen Vorenzymes, des Zymogens, das erst nach dem Hinzutritt der Kinase zum wirksamen Enzym wird.

Im allgemeinen darf der Katalysator nur durch seinen Kontakt mit dem reagierenden Gemisch wirken, muß sich also in jedem Stadium der Katalyse in Freiheit befinden. Wir kennen aber eine Reihe von Vorgängen, bei denen der Katalysator selbst eine vorübergehende chemische Bindung erfährt, wie bei der Bildung von Äther aus Alkohol unter Schwefelsäurezusatz. Bekanntlich entsteht dabei als intermediäres Produkt Äthylschwefelsäure. In diesen Fällen bezeichnen wir die Katalysatoren als sog. „Pseudokatalysatoren“.

Für die Enzymwirkung kann höchstwahrscheinlich eine vorübergehende Bindung des Enzymes an das betreffende Substrat angenommen werden. Bei der Spaltung oder Zerlegung desselben findet dann wieder eine Befreiung des Enzymes statt, worauf es neuerlich in Tätigkeit treten kann.

Für die Enzyme charakteristisch ist ihre Spezifizität. Durch die Untersuchungen Emil Fischers über die Glukosidspaltung durch Enzyme gelangten wir zu einer Erklärung der schon früher bekannten spezifischen Eigenschaften der Enzyme. Man wußte ja, daß für die verschiedenen der enzymatischen Spaltung unterliegenden Verbindungen bestimmte Enzyme vorhanden sind. Emil Fischer konnte nun experimentell feststellen, daß z. B. das α-Methylglukosid durch Invertin gespalten wird, während das β-Methylglukosid davon unbeeinflußt bleibt und nur vom Emulsin zerlegt wird. Letzteres vermag aber nicht die Zerlegung des α-Methylglukosides zu beschleunigen. Hier handelt es sich um gleiche chemische Verbindungen, die sich nur stereochemisch durch die Lagerung des asymmetrischen Kohlenstoffatoms unterscheiden. Sie besitzen also nur eine andere sterische Konfiguration. Fischer dehnte seine Untersuchungen auch auf andere enzymatische Spaltungen aus und aus den Ergebnissen dieser grundlegenden Arbeiten kann man den allgemeinen Schluß ziehen, daß ein Enzym nur diejenigen Verbindungen zu spalten vermag, die mit dem betreffenden Enzym ein sterisch gleichgelagertes Atom besitzen. Die übrige Zusammensetzung derselben scheint belanglos zu sein. Demnach kann ein Enzym auch mehrere verschiedene Verbindungen in den Reaktionen beinflussen, sofern dieselben nur das für das Enzym passend sterisch gelagerte Atom aufweisen, womit aber die Spezifizität der Enzyme

vollständig gewahrt bleibt. Diese Anpassung zwischen der Konfiguration der zu spaltenden Substanz und dem Enzym deutet aber ebenfalls auf eine vorübergehende Bindung desselben.

Wie schon oben angedeutet, wird die Enzymwirkung durch eine Reihe äußerer chemischer und physikalischer Faktoren beeinflußt. Die einzelnen Enzyme verhalten sich diesen Einflüssen gegenüber außerordentlich verschieden, weshalb sich in dieser Hinsicht nur wenige allgemeine Angaben machen lassen.

Sehr geringe Mengen von Säuren sind der Enzymwirkung nicht hinderlich, denn freie H^+Ionen erweisen sich dabei als notwendig. Größere Säuremengen wirken hinderlich oder zerstören das Enzym.

Gegen freie Alkalien sind die Enzyme wenig widerstandsfähig und werden schon durch geringe Mengen freier OH^-Ionen meistens in der Wirkung behindert. Eine Ausnahme macht nur das Pankreasenzym und die ihm nahestehenden Trypsine der Bakterien, die gerade in alkalischer Lösung wirksamer sind.

Die Neutralsalze sind im allgemeinen in niederen Konzentrationen für Enzyme unwirksam oder wenig schädigend, während die konzentrierten Lösungen derselben eine Fällung der Enzyme herbeiführen.

Die Schwermetallsalze verhalten sich außerordentlich verschieden gegen Enzyme. Wir finden unter ihnen Paralysatoren und Aktivatoren. Die einzelnen Enzyme weisen in dieser Hinsicht ebenfalls Verschiedenheiten auf. Dasselbe gilt auch für die kolloidalen Metalle.

Ozon und Sauerstoff zerstören die Enzyme, besonders bei gleichzeitiger Sonnenbestrahlung.

Schwefelwasserstoff erweist sich im allgemeinen indifferent, nur auf die Katalase wirkt er deletär.

Auch gegen die verschiedenen organischen Substanzen sind die einzelnen Enzyme sehr verschieden widerstandsfähig. Von den Körpern der Fettreihe sind die niederen Alkohole im allgemeinen für die Wirkung der Enzyme schädlich. Sie zerstören sie aber nur sehr langsam, weshalb sie zur Gewinnung vielfach Anwendung finden. Azeton und Äther beeinflussen die Enzyme sehr wenig. Formaldehyd zerstört schon in 1 proz. Lösung die meisten Enzyme sehr rasch. Chloroform schädigt mehr oder minder stark alle Enzyme.

Viel untersucht ist die Einwirkung aromatischer Verbindungen auf die verschiedenen Enzyme, da dieselben eine Fülle sehr brauchbarer Desinfektionsmittel abgeben. Phenol, Thymol, Salizylsäure, Benzoesäure verhalten sich den Enzymen gegenüber gewiß nicht völlig indifferent, sondern schädigen sie, jedoch viel weniger als die lebenden Zellen selbst. Das Gleiche gilt für eine Reihe ätherischer Öle, wie besonders Senföl.

Die Alkaloide scheinen keinen besonders bemerkenswerten Einfluß auf die Enzyme im allgemeinen zu besitzen.

Blausäure (auch Zyanamid, Azetonitril und Hydroxylamin) hemmen die meisten Enzyme nicht, mit Ausnahme der Peroxydase und der Zymase. Es findet aber keine Zerstörung derselben statt, denn nach Entfernung der Blausäure wirken sie wie ursprünglich.

Von den **physikalischen Einflüssen** ist besonders derjenige der Temperatur hervorzuheben. Alle Enzyme sind thermolabile Substanzen, die schon verhältnismäßig niedere Temperaturen, die nur wenig über der Koagulationstemperatur der Eiweißkörper liegen, vernichten. Die meisten von ihnen werden schon durch eine kurze Einwirkung von Wärmegraden um 70° dauernd geschädigt. Dies gilt aber nur für ihre Lösungen, da sie in Form trockener Pulver selbst Temperaturen über 120° längere Zeit hindurch ohne Schädigung ihrer Wirkung ertragen. Übrigens verhalten sich auch in dieser Hinsicht die einzelnen Enzyme sehr verschieden. Auch der Grad der Reinheit ist dabei mitbestimmend. Je reiner das Enzym oder besser gesagt die Enzymlösung ist, desto empfindlicher erweist es sich gegen Hitze. Tiefe Temperaturen scheinen die Enzyme kaum zu schädigen; sie werden dadurch nur gehemmt.

Sonnenlicht schädigt die Enzyme im allgemeinen sehr wenig, sofern man den Sauerstoff abhält und indifferente Lösungsmittel verwendet. In trockenem Zustande findet keine Zerstörung derselben statt. Übrigens stimmen diese Angaben nur für Versuche, bei denen die Enzyme unter Glas gehalten sind. In diesem Falle wird die Wirkung der Sonnenstrahlen allerdings dann erhöht, wenn sich bei Sauerstoffanwesenheit gleichzeitig Sensibilisatoren, wie beispielsweise fluoreszierende Stoffe, in der Enzymlösung befinden. Wenn die Versuche mit Sonnerlicht aber in Gefäßen angestellt werden, deren Wände die nicht sichtbaren oder ultravioletten Strahlen glatt hindurch lassen, dann findet eine rasche Zerstörung aller Enzyme statt. Der Sauerstoff spielt dabei gar keine Rolle, denn die Vernichtung tritt auch bei Ausschluß desselben ein. Im Besonderen verhalten sich die einzelnen Enzyme den ultravioletten Strahlen gegenüber insofern verschieden, als die Vernichtungszeit eine verschiedene ist. Von den kurzwelligen Strahlen scheinen die von 220 bis 253 $\mu\mu$ die wirksamsten zu sein, sofern man die am Lab erhaltenen Ergebnisse verallgemeinern darf.

Röntgenstrahlen erweisen sich den Enzymen gegenüber als ziemlich indifferent, jedenfalls schädigen sie sie innerhalb kürzerer Zeit nicht bemerkenswert.

Über die Art und Weise der Wirksamkeit der Radiumstrahlen gehen die Untersuchungsergebnisse etwas auseinander. Emulsin und Trypsin sollen von ihnen geschädigt werden, andere Enzyme dagegen nicht. Andererseits schädigt der Zusatz von Radiumbromid oder von Wasser, das Radiumemanation enthält, die Trypsinwirkung nicht, sondern soll sie sogar nach Bergell günstig beeinflussen, was allerdings von anderen Untersuchern nicht bestätigt wird.

Die Wirkungen statischer und galvanischer Elektrizität auf Enzyme ist noch wenig untersucht. Wenigstens bei letzterer werden die elektrolytisch entstandenen Produkte einen wesentlichen Einfluß auf die Enzymwirkung und das Enzym haben können. Bei der Anwendung starker Ströme und solcher von hoher Spannung findet allerdings eine Schädigung statt. In dieser Hinsicht ergeben sich für die einzelnen Enzyme ebenfalls recht beträchtliche Unterschiede.

Bevor die in den Bakterien nachgewiesenen Enzyme und deren Wirkungsweise eingehender dargelegt werden wird, soll die **Enzymnomenklatur**, die in folgenden gebraucht wird, kurz erörtert werden.

Früher stellte man die „organisierten Fermente“ den „unorganisierten Fermenten“ gegenüber. Für letztere wurde nach Kühne der Name „Enzyme“ gebraucht. Man verstand darunter Fermente, die auch losgelöst von der Zelle ihre Wirksamkeit behalten. In die Gruppe der „organisierten Fermente“ gehörten jene, die nur im Zusammenhang mit der lebenden Zelle ihre Wirkung äußerten. Heute fordern wir von jedem Ferment die Charaktere eines „unorganisierten Fermentes“, weshalb bisher und auch in der Folge dafür hier ganz allgemein die Bezeichnung „Enzym“ gebraucht werden soll.

Die einzelnen Enzyme bezeichnet man am besten durch Anhängung der Silben — ase an den Namen desjenigen Substrates, das vornehmlich vom betreffenden Enzym angegriffen wird. Allerdings stößt diese einheitliche Nomenklatur bei lange bekannten Enzymen auf Schwierigkeiten, da der alt eingebürgerte Name sich nur schwer elliminieren läßt. Immerhin lassen sie wenigstens eine Modernisierung zu, die einigermaßen zur zweckmäßigen Einheitlichkeit der Bezeichnungen führt.

Wir können der Wirkungsweise der Enzyme entsprechend, dieselben in drei große Gruppen einteilen, denen als vierte eventuell eine kleine Gruppe zweifelhafter Enzyme angeschlossen werden soll. Dabei ist allerdings auf reserversible enzymatische Vorgänge keine Rücksicht genommen.

Die erste Gruppe umfaßt jene Enzyme, die reine hydrolytische Spaltungen beschleunigen. Man kann sie nach Hugo Fischer als Schizasen bezeichnen oder mit Oppenheimer als **Hydrolasen**. Die durch sie beeinflußten hydrolytischen Spaltungen verlaufen genau so, wie die Säure- oder Alkalihydrolyse, bei denen die Spaltung des hochkomplexen Ausgangsmaterials in einfachere Verbindungen unter Aufnahme der Wasserelemente erfolgt. Dabei entstehen Produkte, deren Atomgruppen im Moleküle des Ausgangskörpers bereits enthalten sind.

Die zweite Gruppe umfaßt die oxydierenden Enzyme oder **Oxydasen**, die als Sauerstoffüberträger katalytisch fungieren.

In der dritten Gruppe sind die Gärungsenzyme zusammengefaßt, die man zweckmäßig und einheitlich mit Oppenheimer als **Zymasen** bezeichnet.

Die **Reduktasen** können als vierte kleine Gruppe anhangsweise angeschlossen werden, da ihre Existenz keineswegs sichergestellt erscheint.

In die Gruppe der Schizasen oder Hydrolasen gehören unter anderen alle Eiweiß abbauenden Enzyme. Dieselben werden teils von der Zelle nach außen abgeschieden oder Wirken nur in der Bakterienzelle als sog. Endoenzyme. Die einzelnen hier in Betracht kommenden Enzyme wirken sehr verschieden auf die Eiweißkörper und deren Abkömmlinge. Überhaupt ist die komplette Aufspaltung der Eiweißkörper nicht auf die Wirkung eines einzelnen Enzymes zurückzuführen, sondern auf das Nebeneinander- und Hintereinanderwirken zahlreicher Enzyme, von denen wir vielleicht nicht einmal alle nach den besonderen Äußerungen erkannt haben.

Die genuinen Eiweißkörper und auch Nukleoalbumine werden von den Tryptasen kräftig angegriffen, Enzymen von Proteasencharakter, die analog dem Pankreastrypsin wirken und im Reiche der Bakterien weit verbreitet sind. Sie besitzen wahrscheinlich alle Bakterien als Endotryptase, die im Preßsaft der Hefe verschiedentlich nachgewiesen worden ist. Außerdem haben zahlreiche Bakterienarten Tryptasen, die von

der Zelle nach außen abgeschieden werden und sich dadurch äußern, daß solche Bakterien Gelatine bei ihrem Wachstum verflüssigen und weiter abbauen. Im allgemeinen geschieht dieser Abbau der Eiweißkörper analog demjenigen durch Säurehydrolyse. Derselbe vollzieht sich beim Trypsin, also auch bei den Tryptasen der Bakterien, in der Weise, daß zuerst eine Zerlegung in Polypeptidgemische erfolgt. Aus diesem Gemisch werden nach Abderhalden nur jene Polypeptide weiter gespalten, die natürlich vorkommende, optisch aktive Aminosäuren enthalten; von den razemischen Polypeptiden aber nur der eine Paarling, sofern er natürliche Aminosäuren an sich hat. Der Abbau dieser Polypeptide geschieht sehr tief, herab bis zu Ammoniak, über heterozyklische Verbindungen der Pyrazol-, Pyrrol- und Indolreihe, Aminosäuren der aromatischen Reihe, Thioamino-, Oxyamino-, Diamino- und Aminosäuren. Auch die Nukleoproteide unterliegen der tryptischen Spaltung, wobei aber Nukleinsäure restlich übrig bleibt, die durch andere spezifische Enzyme weiter gespalten wird. Die Tryptasen wirken am besten bei schwach alkalischer Reaktion, also in Substraten mit einer geringen Menge freier Hydroxylionen. In stark alkalischer oder saurer Lösung werden sie gehemmt und schließlich zerstört.

Die genuinen Eiweißkörper (auch Nukleoalbumine und Nukleoproteide, Kollagen, Glutin, Elastin) usw. unterliegen auch einer Spaltung durch Pepsinasen, deren Wirkung aber nicht sehr tief geht, da dabei nur Peptone, also Polypeptidverbindungen entstehen, die nicht weiter von ihnen abgebaut werden. Von Albumosen soll nach dem Vorschlage Abderhaldens überhaupt nicht mehr gesprochen und dieser Ausdruck gänzlich fallen gelassen werden. Die Nukleinverbindungen werden durch die Pepsinasen in Nukleinsäure und Eiweißreste zerlegt, die ebenfalls von ihnen nicht weiter zerlegt werden. Der typische Vertreter der Pepsinasen ist das Pepsin des Magensaftes. Auch bei den Bakterien finden sich Pepsinasen, deren Natur aber wegen den anderen gleichzeitig vorhandenen Proteasen schwer erkannt wird und eine Isolierung bisher nicht geglückt ist. Im allgemeinen wirken die Pepsinasen am besten bei saurer Reaktion, also beim Vorhandensein freier Wasserstoffionen. Zu den Pepsinasen wäre vielleicht das Elastin lösende Enzym Eijkmanns zu rechnen, über das wir aber wenig wissen. Ob in dem Papayotin Beckolts ein Gemisch von Tryptase und Pepsinase vorliegt, ist zurzeit noch kaum zu entscheiden. Der Bacillus fluorescens liquefaciens, eine Wasserbakterie, enthält ein dem Papayotin nahestehendes Enzym.

Für den weiteren Abbau der bei der tryptischen und peptischen Spaltung restierenden Polypeptide und einfacheren Verbindungen kommen die Peptasen in Betracht, die entweder in den Zellen ihren Sitz haben oder in das umgebende Medium abgegeben werden (Ereptasen). Beide Arten sind auch bei den Bakterien anzunehmen. Sie bauen die Pelypeptide bis zu den einfachsten Verbindungen ab, wie es die Tryptasen nur bei einigen Polypeptiden zu leisten vermögen. Auch sie wirken am besten bei schwach alkalischer Reaktion der Lösungen.

Bei den genannten Eiweißspaltungen entstehen eine Reihe von Zwischenprodukten, von denen gewisse durch besondere Enzyme weiter gespalten werden.

So ergaben die Versuche NAWIASKYS über die Spaltung des Asparagins durch Bakterien, daß dabei ein besonderes, Aminosäuren spaltendes Enzym tätig ist, die „Aminazidase".

Beim Abbau der Eiweißstoffe entsteht unter anderen auch Arginin, das durch ein Enzym, die Arginase in Ornithin und Harnstoff gespalten wird. Für Hefe ist dieses Enzym nachgewiesen. Ob es sich auch in Bakterien findet, steht zur Zeit noch aus. Wir dürften kaum fehlgehen, es auch bei ihnen anzunehmen.

Der Harnstoff unterliegt ebenfalls einer hydrolytischen Spaltung durch ein Bakterienenzym, die Urease, das durch eine physiologische Gruppe von Bakterien, die Harnstoffbakterien, in reichlicher Menge gebildet wird, sich aber nur schwierig aus den Kulturen gewinnen läßt.

Der Harnstoff wird durch die Urease in Ammoniumkarbonat zerlegt nach der Formel:

$$CH_4N_2O + 2H_2O = (NH_4)_2CO_3.$$

Die Nukleinsäure als Spaltungsprodukt der Nukleinverbindungen bei der Zerlegung derselben mit Tryptase oder Pepsinase wird durch ein auch in Bakterien von Schittenhelm und Schröter nachgewiesenes Enzym, die Nuklease, weiter gespalten, wobei Xanthin, Hypoxanthin und Phosphorsäure entstehen.

Wenn wir die gesamten, bekannteren eiweißzerlegenden und tief spaltenden Enzyme schematisch zusammenstellen und ihre Wirkungsweise in groben Umrissen wiedergeben wollen, so können wir folgende Aufstellung machen, wo neben den wichtigsten Gruppen von Spaltprodukten die eine oder andere Verbindung angegeben ist.

Genuines Eiweiß mit

Tryptasen ergeben als Spaltungsprodukte:		Pepsinasen ergeben als Spaltungsprodukte:
Polypeptide mit natürlichen aktiven Monaminosäuren, die sofort weiter gespalten werden in:	Polypeptide ohne natürliche aktive Monaminosäuren	Polypeptidkomplexe (Peptone)
heterozyklische, aromatische Spaltprodukte, Lysin, Arginin, Monamidokarbonsäuren, Monaminosäuren, Ammoniak.	mit Peptasen und Ereptasen entstehen die links bei den Tryptasen angegebenen Spaltprodukte.	

Arginin mit Arginase ergibt als Spaltungsprodukte:		Harnstoff mit Urease ergibt als Spaltprodukt:
Ornithin	Harnstoff	Ammoniumkarbonat

Nukleinverbindungen mit

Tryptasen		Pepsinasen	
weiter zersetzbare Eiweißgruppen	Nukleinsäure	Nukleinsäure	Eiweißgruppen
	mit Nuklease Xanthin Hypoxanthin Phosphorsäure		

Den proteolytischen Enzymen lassen sich die sog. „Koagulasen" anschließen.

Die Koagulasen oder Gerinnungsenzyme sind dadurch charakterisiert, daß durch ihre Wirkung gelöste, komplizierte Körper in unlösliche Modifikationen übergehen, die dann in gröberer oder feinerer Form ausfallen. In diese Gruppe von Enzymen gehört die Bakterienchymase oder das Bakterienlab. Dasselbe schließt sich in seinen Wirkungen dem Parachymosin an. Es findet hier ebenfalls eine Koagulierung des Kaseins unter Bildung von Parakasein statt. Der Vorgang ist aber so zu denken, daß zuerst die Überführung des Kaseins in Parakasein unter Hydrolisierung erfolgt und die eigentliche Fällung des letzteren ein Prozeß für sich ist. Höchstwahrscheinlich bleibt die Bakterienchymase zeitlebens in der Zelle und wird erst nach dem Tode derselben frei. Deshalb merkt man in sehr jugendlichen Kulturen, die noch wenige tote Zellen enthalten, nur wenig von labenden Wirkungen.

Den Bakterienproteasen anzuschließen sind dann noch die **Bakterienhämolysine.** Dieselben werden von zahlreichen Bakterienarten in mehr oder minder großer Menge erzeugt. Besonders eine Reihe tierpathogener Bakterien vermag kräftig Hämolysine zu bilden. Dieselben bewirken eine Veränderung der frischen roten Blutkörperchen, die zu einem Austritt des roten Blutfarbstoffes, des Hämoglobins, führt. Dabei kommt es später zu einer Lösung des ganzen Blutkörperchens, was aber als sekundärer Prozeß anzusehen ist und mit dem Enzym der Hämolyse nichts zu tun hat. Daß es sich bei der Hämolyse wahrscheinlich um ein Enzym handelt, geht daraus hervor, daß die Bakterien nicht nur in unmittelbarem Kontakt mit den Blutkörperchen die Hämolyse herbeiführen, sondern in Gallerten diffundierende Stoffe absondern, die diese Wirkung ebenfalls zeigen. Allerdings muß es sich dabei nicht um Enzyme allein handeln, denn auch Stoffwechselprodukte können hämolytisch wirken.

Der Vollständigkeit wegen sei hier auch das **Leukozidin** und die **Pyozyanase** genannt. Ersteres ist sehr wärmeunbeständig. Nach dem ganzen Vorgange der Wirkung, der darin besteht, daß das Leukozidin nach den Untersuchungen von Neisser und Wechsberg die weißen Blutkörperchen oder Leukozyten unter Bildung von Granulationen in denselben tötet und schließlich löst, scheint es sich hier um eine Summe von Wirkungen mehrerer Stoffe zu handeln, von denen gewiß ncht alle Enzymnatur aufweisen.

Die Pyozyanase wieder, ein Produkt der Pseudomonas aeruginosa, löst arteigene Zellen und andere Bakterien mehr oder minder komplett. Auch hier scheint es sich um ein Enzymgemisch zu handeln, dessen einzelne Komponenten noch keineswegs erkannt sind.

ACHTE VORLESUNG.

Kohlehydrat spaltende Enzyme. Oxydasen. Gärungsenzyme.

Die Bakterien bilden aber auch eine Reihe von Enzymen, die gegen *Fette* und *Kohlehydrate* gerichtet sind, die sie hydrolytisch spalten. Diese Bakterienenzyme bilden dementsprechend ebenfalls Untergruppen der Schizasen oder Hydrolasen.

Da sind vorerst zu nennen die **Esterasen** (*Oppenheimer*), bei deren Wirkung aus Säureestern Alkohole und Säuren entstehen. Hierher gehört die *Phytolipase*, die in zahlreichen Bakterien vorkommt. Sie spaltet *Fette in freie Fettsäuren und Glyzerine* unter *Aufnahme der Elemente des Wassers* nach der allgemeinen Formel

$$C_3H_5(O \cdot C_nH_{2n-1}O)_3 + 3H_2O = C_3H_5(OH)_3 + 3C_nH_{2n}O_2$$

Das Optimum ihrer Wirkung liegt bei verhältnismäßig niederer Temperatur, etwa um 45° C.

Weiter finden wir bei zahlreichen Bakterien die Fähigkeit, *Glykoside* zu spalten; dieselbe ist auf Enzyme zurückzuführen, die man unter dem Namen der **Glykosidasen** vereinigt. Die weitverbreitetste unter den Bakterien ist die *Amygdalase* oder das *Emulsin*. Dasselbe *spaltet hydrolytisch das Amygdalin, ein Glykosid des bitteren Mandelkernes, in Glykose, Benzaldehyd und Blausäure* nach der Formel

$$C_{20}H_{27}NO_{11} + 2H_2O = 2\underset{\text{Glykose}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Blausäure}}{HCN} + \underset{\text{Benzaldehyd}}{C_6H_5CHO}$$

Die Amygdalase der Bakterien spaltet aber auch eine Reihe anderer Glukoside. Es verhalten sich die einzelnen Glykosid spaltenden Mikroben in dieser Hinsicht aber verschieden. Das Optimum der Amygdalasewirkung liegt ebenfalls bei 40—45° C. Eine Ausnahme in dieser Hinsicht macht nur die Amygdalase des *Bacillus emulsinus* und *Bacillus thermophylus*, die selbst ein hohes Temperaturoptimum haben und den Nährlösungen zugesetzte Glykoside erst bei ihrem Wachstum bei 60° zerlegen. Ob dieser Vorgang hier ebenfalls enzymatischer Natur ist, sei einstweilen dahingestellt. Im allgemeinen ist eine sichere Trennung der Amygdalase oder der Glykosidasen von der Bakterienzelle überhaupt noch nicht geglückt, was natürlich kein Einwand gegen die Enzymnatur der bakteriellen Glykosidspaltung sein soll. Für die Enzymnatur dieser Vorgänge sprechen die Befunde beim Spalten des Amygdalins mit Hefepreßsäften, die diese Spaltung glatt nach der oben vorgeschriebenen Formel durchführen, wenn

auch die dabei entstehende Glykose von der Zymase sofort weiter vergoren wird.

Von Kohlehydrate spaltenden Enzymen finden wir in den Bakterien **Amylase** (früher Diastase genannt). Durch dieselbe wird eine hydrolytische Spaltung der Stärke in Maltose und Dextrine herbeigeführt. Die Amylase wirkt nun gegen die einzelnen Stärkesorten sehr verschieden. Sie spaltet die Maltose nicht weiter, wohl aber in einigen Fällen die entstandenen komplexen Polysaccharide (Dextrine). Übrigens besteht die Amylase nach der von Wysmann, Potevin und Beijerinck vertretenen Anschauung eigentlich aus zwei Enzymen, von denen das eine eine Lösung der Stärke herbeiführt, während das andere eine Verzuckerung der nun löslichen Stärke bewirkt. Diese vielumstrittene „Zweienzymtheorie" findet in den Ergebnissen der Untersuchungen mit „Reindiastase" aus Malz von Fränkel und Hamburg eine wesentliche Stütze, da die beiden Forscher für ihr gewiß schon sehr reines Präparat bei der Dialyse gegen gekochtes Wasser beobachteten, daß die Membran vornehmlich die verzuckernden Amylasen rasch passierten, während die stärkelösenden Enzyme quantitativ zurückgehalten wurden. Das Temperaturoptimum für die Amylase liegt hoch, da sie bei 63° C am kräftigsten wirkt.

Die Zersetzung der Zellulose durch Bakterien, ein in der Natur weitverbreiteter Vorgang, der erst vor kürzerer Zeit uns durch die Untersuchungen Omalianskis genauer bekannt geworden ist, geschieht aller Wahrscheinlichkeit nach ebenfalls mit Hilfe eines Enzymes, der **Zellulase**. Es bewirkt eine sehr tiefgehende Zersetzung der Zellulose, deren gasförmige Endprodukte hauptsächlich Kohlensäure, Wasserstoff oder Kohlensäure und Methan sind.

Auch die Pektinsubstanzen der Pflanzenreste unterliegen einer bakteriellen Spaltung, die höchstwahrscheinlich enzymatischer Natur ist und durch die **Pektinase** bewirkt wird. Pektinzerstörende Bakterien sind ja bei der Flachröste beteiligt und bedingen auch unter anderen die Weichfäule der Mohrrüben. Auch die Pektosinase Beijerincks und van Deldens gehört hierher und dürfte mit der Pektinase identisch sein.

Weiter wird allerdings nur von wenigen Bakterienarten, die samt und sonders im Meere vorkommen, Agar gelöst oder erweicht. Gran hat einen solchen „Bacillus gelaticus" aus Meerwasser isoliert und auch aus dem Triester Hafenwasser konnte eine Spirillenart reingezüchtet werden, die die Agargallerte erweicht. Dabei entstehen reduzierende Spaltungsprodukte, die teilweise rasch weiter zerlegt werden. Diese hydrolytische Spaltung des Agars, bzw. des denselben vornehmlich zusammensetzenden Kohlehydrates „Gelose" besorgt das Enzym **Gelase**.

Außer den durch die genannten „Polysaccharasen", wie sie Oppenheimer zusammenfaßt, bewirkten Spaltungen, finden wir bei den Bakterien noch Spaltungswirkungen, die ebenfalls aller Wahrscheinlichkeit nach auf Enzyme zurückgeführt werden müssen, obgleich der strikte Beweis dafür bei diesen Organismen noch nicht erbracht ist. Es sind dies Spaltungen von Raffinose, die wir bei Hefen ebenfalls finden, wie besonders bei der Oktosporushefe. Dabei wird aus der Raffinose mit Hilfe des Enzyms **Raffinase** Fruktose abgespalten, während die Melibiose unverändert zurückbleibt. Es wird hier eine der Invertasewirkung homologe hydrolytische Spaltung durchgeführt, da die gleichen Bindungsverhält-

nisse wie im Rohrzucker vorliegen. Trotzdem scheint es sich um zwei verschiedene Enzyme zu handeln, da nicht alle Invertase führende Mikroorganismen (Hefen und Bakterien) auch Raffinose aufzuspalten vermögen.

Wie schon angedeutet, findet sich für die Rohrzuckerspaltung ein besonderes Enzym, die **Invertase**, bei sehr vielen Bakterien und Hefen. Durch Invertase zerfällt das Rohrzuckermolekül in rechtsdrehende d-Glykose und linksdrehende d-Fruktose, die zusammen den Invertzucker ergeben, der selbst linksdrehend ist. Die Invertase wird allem Anschein nach nicht aus der lebenden Bakterienzelle ausgeschieden, sondern die Invertierung der gesamten Rohrzuckermenge erfolgt in der Zelle selbst. Die Invertase ist eines der am genauesten studierten Enzyme, da es bei allen Gärungsvorgängen von Dissacchariden eine wesentliche Rolle spielt.

Ein weiteres, weit verbreitetes Enzym ist die **Laktase**, die Laktose oder Milchzucker in d-Glykose und d-Galaktose spaltet. Sie ist direkt für viele der bekannten Milchbakterien nachgewiesen. Die entstandenen Spaltungsprodukte erleiden durch andere Enzyme eine tiefere Zerlegung. Sie ist sozusagen ein Analogon zur Invertase, die ja auch nur wenig tief spaltet und dabei leicht weiter angreifbare Produkte bildet.

In den Hefen findet sich auch ein besonderes Enzym für die Spaltung der Maltose, die **Maltase**. Durch sie wird die Maltose in Glykose zerlegt. Wir dürfen wohl annehmen, daß sich dieselbe auch in zahlreichen Bakterien vorfindet, die imstande sind, dieses Dissacharid zu vergären. Bei den Hefen sitzt die Maltase sehr fest in den Zellen und kann durch Ausziehen der lebenden Zelle mit Wasser nicht erhalten werden. Erst nach dem Austrocknen derselben gelingt die Herauslösung derselben. Sie ist eines der empfindlichsten Enzyme, wirkt am besten bei 40° C und wird schon bei 55° zerstört.

Ob sich in Bakterien auch besondere Enzyme zur Zerlegung der Trehalose und Melibiose, die **Trechalase** und **Melibiase** finden, ist zurzeit keineswegs sichergestellt. Die Möglichkeit des Vorhandenseins ist aber nicht von der Hand zu weisen. Die Trechalase, die sich besonders in Hefen vom Frohbergtypus nachweisen läßt, spaltet hydrolytisch Trehalose in zwei Moleküle Glykose. Die Trehalose findet sich vornehmlich in der syrischen Manna. Die Melibiase, die sich vornehmlich in den untergärigen Hefen findet, zerlegt hydrolytisch Melibiose in d-Galaktose und d-Glykose, also Produkte, die bei der Milchzuckerspaltung durch Laktase ebenfalls entstehen, wie wir oben gesehen haben. Auch dieses Enzym ist für die Bakterien noch nicht sichergestellt.

Damit hätten wir die gesamten, bei den Bakterien etwa vorkommenden Schizasen oder Hydrolasen, kurz erörtert. Eine kurze Zusammenstellung aller hydrolitisch spaltenden Bakterienenzyme soll die Übersicht erleichtern. Dabei wurde die von mir früher schon gebrauchte Nomenklatur mit Ergänzungen nach Oppenheimer gebraucht.

Schizasen. (Hydrolasen.)

I. Proteasen.

1. Tryptasen. — 2. Pepsinasen. — 3. Nukleasen. — 4. Peptasen und Ereptasen. — 5. Arginase. — 6. Urease. — 7. Aminazidasen.

II. Koagulasen.

1. Chymase.

Dazu als Anhang: Bakterienhämolysine, Leukozidin und Pyozyanase.

III. Esterasen.

Lipase.

IV. Karbohydrasen.

1. Amygdalase. — 2. Polysaccharasen (Amylase, Zellulase, Gelase, Pektinase). 3. Trisaccharasen (Raffinase). — 4. Disaccharasen (Invertase, Laktase, Maltase, Trechalase, Melibiase).

Im Leben der Zellen spielen Oxydationsvorgänge eine außerordentlich wichtige Rolle. Ohne auf die noch offene Streitfrage der Existenz besonderer Enzyme für die oxydativen Vorgänge einzugehen, wollen wir vorläufig die Enzymnatur derselben als bewiesen betrachten. Die dabei tätigen Enzyme faßt man unter dem Namen **„Oxydasen"** zusammen. Die Wirkungsweise dieser Enzyme scheint eine hochkomplizierte zu sein, in die wir erst einen sehr geringen Einblick besitzen. Es seien hier nur die zwei modernen Theorien über die Oxydasenwirkung wiedergegeben, die aller Wahrscheinlichkeit nach eine Berechtigung haben, und in vielen Fällen wohl das richtige treffen. Nach Bertrand ist die Wirkung einer Oxydase auf ihren Mangangehalt zurückzuführen, wobei die Oxydasen selbst aus einem organischen Anion und einem Mangankation bestehend gedacht sind. Durch die Oxydation des Manganoxyduls wird molekulärer Sauerstoff gespalten und das dabei freiwerdende Sauerstoffatom bindet sich mit dem zu oxydierenden Körper. Das organische Anion, das nichts anderes als das Enzym selbst ist, bewirkt dann wieder eine Regeneration des Manganoxydules. Es kann das Mangan in diesen Fällen aber auch durch Eisen ersetzt werden, da in manchen Fällen bei kräftig wirkende Oxydasen enthaltenden Substanzen nur Spuren von Mangan oder nichts davon nachgewiesen werden kann, während Eisen in ziemlicher Menge vorhanden ist.

Die zweite, weitaus wichtigere Theorie der Oxydasenwirkung stammt von Chodat und Bach. Sie ist im wesentlichen wenigstens für die Phenole oxydierenden Enzyme sicherlich richtig. Darnach soll die anorganische und organische Oxydation auf Peroxyde zurückgehen. Letztere nennen Bach und Chodat, entgegen der gebräuchlichen Bezeichnungsweise, Oxygenasen. Sie entfalten ihre Haupttätigkeit erst durch Hinzutreten eines besonderen Enzymes, der Peroxydase im engeren Sinne des Wortes, indem durch letztere aktiver Sauerstoff freigemacht wird. Dazu ist noch zu bemerken, daß die Peroxydasen Enzyme sind, die nur bei Anwesenheit von H_2O_2 Oxydationen unterhalten. Die organischen Peroxyde (Oxygenasen) geben mit Wasser leicht H_2O_2, das durch die Peroxydasen im ebenerwähnten Sinne zersetzt wird. Im allgemeinen sind also zur Reaktion Peroxyde unbedingt notwendig, entweder H_2O_2 in Verbindung mit der Peroxydase oder die organischen Peroxyde unmittelbar oder mittelbar als Lieferanten von H_2O_2. Wir können weiter unter den „indirekten Oxydasewirkungen" jene verstehen, bei denen das notwendige Peroxyd z. B. in Form von Wasserstoffperoxyd zugesetzt wird, während bei den „direkten Oxydasewirkungen" das entsprechende Peroxyd von der Zelle selbst gebildet wird. Zur Wirkung der Oxydasen ist der ungehinderte Zutritt des freien Luftsauerstoffes im allgemeinen unerläßlich. Nur die Oxydationen bei der zitronensauren Gärung scheinen auch im Vakuum zu verlaufen; wir haben aber noch keinen näheren Einblick in dieselben.

Oxydasen unterhalten nun die sog. oxydativen Gärungen, die durch zahlreiche Mikroorganismen ausgelöst werden. Die verbreitetste und wichtigste unter ihnen ist die Essigsäuregärung, bei der aus Äthylalkohol Essigsäure gebildet wird. Diese Umsetzung vermittelt das Enzym **Alkoholase**, deren zellenfreie Wirkung durch die Untersuchungen Buchners und Meisenheimers aufgedeckt wurde. Die genannten Forscher und später auch Rothenbach und Eberlein u. A. erhielten die Gärung durch trockenes Bakterienpulver, das nach Abtötung der Zellen mit Azeton gewonnen worden war. Die Alkoholase verliert dauernd ihre Wirkung bei einer Temperatur von 90—100°, wenn Wasser zugegen ist.

Die Reaktion der Oxydation des Äthylalkohols zu Essigsäure erfolgt nach der Formel:

$$CH_3CH_2OH + 2O = CH_3 \cdot COOH + H_2O,$$

wobei eine intermediäre Bildung von Azetaldehyd CH_3CHO zu beobachten ist. Die ganze Oxydation verläuft dementsprechend in zwei Etappen. Der Alkohol wird zuerst zu Aldehyd oxydiert und letzterer weiter zu Essigsäure.

Wir finden dann noch eine Reihe oxydativer Gärungen, die von Bakterien ausgelöst werden, wobei aber ebenfalls wahrscheinlich oxydierende Enzyme anzunehmen sind. Oppenheimer faßt dieselben als **Azidoxydasen** zusammen. Die einzelnen hierher gehörigen Enzyme sind aber noch nicht genauer untersucht. So hat Banning eine große Anzahl Bakterien gefunden, die Traubenzucker unter gewissen Bedingungen zu Oxalsäure oxydieren.

Über die außerordentlich komplizierte Zitronsäuregärung durch Mikroorganismen, deren Verlauf wir noch keineswegs einwandfrei kennen, wollen wir Näheres bei den Hefen berichten.

Hierher gehört auch die Oxydation des Sorbites in Sorbose durch das von Bertrand gefundene Bacterium xylinum. Diese Bakterienart oxydiert übrigens auch Mannit zu Fruktose und auch die anderen mehrwertigen Alkohole.

Zu den genannten Azidoxydasen gehört auch das Enzym des Micrococcus oblongus, welches Glykose zu Glykonsäure oxydiert, die wieder durch ein anderes Enzym zu Oxyglykonsäure weiteroxydiert wird.

In einigen Fällen wurde auch eine durch Bakterien bewirkte Oxydation von Phenolen beobachtet, wie beispielsweise diejenige von Hydrochinon durch die Oxydase des Bacillus coli nach den Untersuchungen von Roux. Hier handelt es sich offenbar um eine **Phenolase**, worunter Oppenheimer Oxydasen versteht, „die aromatische Amine und Phenole unter Farbstoffbildung oxydieren, vor allem Guajaktinktur bläuen, dagegen auf Salizylaldehyd ohne Einwirkung sind". Das bekannteste Enzym dieser Art ist die Lakkase.

Weiter ist von oxydierenden Enzymen noch zu nennen die **Tyrosinase**, deren Wirkungsweise wohl kaum durch eine der obigen Oxydasetheorien richtig erfaßt werden kann. Mit den vorgenannten Phenolasen scheint sie in keiner Beziehung zu stehen. Die Tyrosinase richtet ihre Tätigkeit vornehmlich gegen Tyrosin, kann aber auch andere Stoffe, wie Tryptophan usw. oxydieren. Entsprechend dieser vielseitigen Wirksamkeit soll nach Bertrand dieselbe unmittelbar am Benzolkern dieser Verbindungen angreifen. Wir haben es hier also mit einem

eigenartigen oxydativen Enzym zu tun, das eigentlich nicht in den Rahmen der übrigen Oxydationsenzyme paßt.

Die Tyrosinase wird durch Temperaturen von 60—70° C in kurzer Zeit zerstört. Ihre Anwesenheit verrät sich in Bakterienkulturen auf dem üblichen Nähragar durch eine braune Verfärbung desselben, die in der Folge mitunter sehr dunkel wird. Natürlich muß die Bildung eines braunen oder braunschwarzen, besonderen Bakterienfarbstoffes in diesem Falle ausgeschlossen werden. Den Kulturen zugesetztes Tyrosin wird ebenfalls oxydiert. Eine tiefere Kenntnis über die Bakterientyrosinase besitzen wir zur Zeit noch nicht.

Eine gesonderte Darstellung der Peroxydasen erübrigt sich, da dieselben nach unseren allgemeinen Darlegungen über die Oxydasen in denselben das eigentliche wirksame Moment darstellen.

Zur besseren Orientierung über die bei Bakterien beobachteten Oxydasen diene folgende Übersicht:

Oxydasen.

I. **Alkoholase**, im Anschluß die Azidoxydasen.
II. **Phenolase**.
III. **Tyrosinase** als eigenartige Oxydase.

Im Anschluß an die Oxydasen ist die gewiß, wenn auch nicht allgemein, so doch sicherlich im Reiche der Bakterien und auch Hefen weit verbreitete **Katalase** zu erwähnen. Dieselbe ist ein Enzym, das Wasserstoffperoxyd in Wasser und molekularen Sauerstoff zerlegt.

Bei den Bakterien finden wir auch **Gärungs-Enzyme** weit verbreitet. Darunter verstehen wir mit Buchner Enzyme, welche Zucker in Milchsäure und in Alkohol und Kohlensäure umsetzen. Die alkoholische Gärung erfolgt immer in zwei Etappen durch zwei Enzyme, die sozusagen hintereinander in Wirksamkeit treten. Zuerst entsteht aus den gärungsfähigen Zuckern Milchsäure oder ein leicht Milchsäure gebendes „Vorprodukt", das endlich durch ein zweites Enzym in Alkohol und Kohlensäure zerlegt wird. Die Vorgänge sind in beiden Fällen intramolekularer Natur und verlaufen ohne Aufnahme der Elemente des Wassers. Es wird dabei eine Umlagerung von Sauerstoffatomen herbeigeführt und durch die Erreichung einer höheren Oxydationsstufe eines Teiles der Verbindung diese selbst zerlegt.

Bei den lebenden Hefen finden wir die erste Phase der alkoholischen Gärung, die Milchsäuregärung niemals; desgleichen findet auch eine Weitervergärung zugesetzter Milchsäure nicht statt. Beides zeigt aber die Gärung mit dem Preßsaft der Hefe, wie aus den Versuchen Buchners und Meisenheimers hervorgeht. Bei den Bakterien wieder sehen wir häufig eine reine Milchsäuregärung ohne Alkoholbildung, die ebenfalls enzymatischer Natur ist.

Vorläufig sollen beide Prozesse für sich behandelt und zuerst die bakterielle **Milchsäuregärung** der Besprechung unterzogen werden. Mit Oppenheimer können wir das entsprechende Enzym als **Bakterienzymase** bezeichnen, da auch Buchner das für die erste Umsetzung bis zur Vorstufe der Milchsäure bei der alkoholischen Gärung

wirksame Enzym „Zymase im engeren Sinne" nannte. Wenn es sich in beiden Fällen vielleicht nicht um völlig identische Enzyme handelt, so stehen sie einander doch außerordentlich nahe.

Sowohl E. Buchner und Meisenheimer als auch Herzog haben durch Abtöten von Milchsäurebakterien (Bacillus acidi lactici und Bacillus Delbrücki) mit Methylalkohol bzw. Azeton ein Bakterienpulver erhalten, das die Milchsäuregärung verursachte, womit der Enzymcharakter dieser Gärung festgestellt ist. Es wird dabei immer die α-Oxypropionsäure gebildet. Die bei der bakteriellen Milchsäuregärung entstehende „Gärungsmilchsäure" ist meist die razemische, inaktive Milchsäure. In anderen Fällen beobachtet man die rechtsdrehende Fleischmilchsäure oder Paramilchsäure oder auch die linksdrehende Modifikation der Milchsäure. Das Endprodukt ist von der Bakterienart selbst beeinflußt, die die Gärung erregt, und von dem Nährboden, der der Bakterienart zur Verfügung steht. Es scheint, daß in allen jenen Fällen, bei denen ein aktiver Paarling der Milchsäure als Gärprodukt zur Darstellung gelangt, derselbe als Rest einer mehr oder minder vollkommeren Weiterspaltung des anderen Paarlings der razemischen Milchsäure aufzufassen ist. Gestützt wird diese Annahme noch dadurch, daß von einigen Bakterienarten bei der Milchsäuregärung neben der razemischen Milchsäure noch die eine oder andere optisch aktive Modifikation der Milchsäure nachweisbar ist. Andererseits ist wenigstens für diejenigen Fälle, in denen die Summe der durch Gärung gewonnenen Mengen der verschiedenen Milchsäuremodifikationen quantitativ der Menge des Ausgangsmaterials entspricht, die Auffassung Hörths akzeptabel. Darnach beschleunigt die Bakterienzymase beide Reaktionen, sowohl diejenige, welche zur Bildung der rechtsdrehenden als auch jene, welche zum Entstehen der linksdrehenden Milchsäuremodifikation führt. Bei gleicher Intensität beider muß natürlich das razemische Produkt entstehen, bei ungleicher aber die eine oder andere aktive Komponente überwiegen. Das Auftreten verschiedener Säuremodifikationen hat nach dieser Theorie also seinen Grund in dem Enzym selbst.

Der Milchsäuregärung unterliegen alle einfachen Hexosen (Glykose, Galaktose, Fruktose, Mannose usw.), dann die Pentosen Rhamnose, Arabinose und Xylose. Milchzucker, Rohrzucker usw. werden von der Bakterienzymase erst nach voraufgegangener Inversion durch Laktase bzw. Invertase angegriffen, bzw. die nach der Inversion entstehenden Hexosen werden vergoren. Auch Raffinose und Methylglykosid müssen zuerst von anderen Enzymen gespalten werden, um dann der Milchsäuregärung zu unterliegen.

Bei der Milchsäuregärung zerfällt ein Molekül Hexose in zwei Moleküle Milchsäure nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2 CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH$$

So einfach dies in obiger Gleichung aussieht, so kompliziert scheint aber der Vorgang in Wirklichkeit zu verlaufen. Es scheint der Weg von der Hexose zur Milchsäure über Methylglyoxal und Glyzerinaldehyd zu führen, wie die von Wohl gebrachte Auffassung über diesen Vorgang ergibt.

Die Bakterienzymase ist sehr empfindlich für Säuren, ja auch für die selbstgebildete Milchsäure, die in einer Menge von 0,5—0,8 Proz. die weitere Gärung sicher hemmt.

Die **alkoholische Gärung** ist bei den Bakterien weniger verbreitet, wenn man davon absieht, daß eine sehr geringe Alkoholbildung auch in anderen Lebensprozessen ihre Ursache haben kann. Bei einigen Bakterienarten wie einzelnen Milchbakterien tritt aber eine beträchtliche Menge Äthylalkohol als Gärprodukt auf, die mitunter bis zu 3 Proz. erreicht. Aus diesem Grunde erscheint es gerechtfertigt, daß schon an dieser Stelle bei den Bakterienenzymen die alkoholische Gärung gebührende Berücksichtigung findet. Ohne auf die zwar interessante geschichtliche Entwicklung der Lehre von der alkoholischen Gärung einzugehen, können wir letztere den enzymatischen Vorgängen zuzählen, nachdem es den Bemühungen Buchners gelungen ist, diesen Prozeß vom Leben der Hefezelle unabhängig mit Hefepreßsaft und toten Hefezellen einzuleiten. Wie wir schon bei der Besprechung der Gärungsenzyme im allgemeinen hörten, wird die alkoholische Gärung von zwei Enzymen durchgeführt, der Milchsäure bildenden „Zymase" und einem die Milchsäure weiter vergärenden Enzym, der Lactazidase Buchners. Das Endprodukt der Vergärung der Milchsäure durch das letztgenannte Enzym ist Äthylalkohol und Kohlensäure. Eine Trennung beider Enzyme im Hefepreßsaft oder aus Fällungen derselben war bisher nicht möglich. Deshalb sollen im Folgenden beide Enzyme gemeinsam abgehandelt und unter dem Ausdrucke „Zymase" beide Enzyme in ihrem natürlichen Zusammenhang gemeint sein. Es ist hier also eine weitere Fassung des Begriffes Zymase gegenüber der „Bakterienzymase" bei der eigentlichen Milchsäuregärung gewählt.

Die Zymase des Hefepreßsaftes ist eine sehr unbeständige Substanz, die im Saft schon nach wenigen Tagen ihre Wirkung verliert. In konzentrierter Rohrzuckerlösung und in den getrockneten Hefezellen hält sie sich aber gut. Besonders wirksam bleibt sie in der sog. Dauerhefe, die Buchner im Verein mit Albert und Rapp durch Eintragen lebender Zellen in ein Alkohol-Äther-Gemisch, bzw. in Azeton, nachherigem Waschen mit Äther und raschem Trocknen bei niedriger Temperatur gewinnen konnte.

Die Zymase erweist sich für viele physikalische und chemische Einflüsse als sehr empfindlich. Das Temperaturoptimum für ihre Wirkung liegt bei 28—30° C, die Zerstörungstemperatur bei 40—50° in Lösung, weit darüber für die trockene Zymase. Tiefe Temperaturen schädigen die Zymase nicht, denn durch Gefrieren und Zersprengen der Zellen kann man sie sogar gewinnen.

Elektrische Ströme von geringer Intensität (0,042 Amp., bei 110 Volt Spannung), wie sie Resenscheck auf Hefepreßsäfte angewendet hat, bewirken eine Steigerung des Gärvermögens der Flüssigkeit am negativen Pol, während am positiven Pol eine Herabminderung derselben eintrat. Diese Erscheinung dürfte ihren Grund vielleicht in einer Wanderung des Enzymes selbst und in elektrolytischen Umsetzungen der vorhandenen Salze ihren Grund haben. Längerdauernde Stromwirkungen setzen die Gärwirkung an beiden Polen beträchtlich herab.

Sensibilisatoren, wie fluoreszierende Substanzen machen die Hefe und den Hefepreßsaft verschieden empfindlich für die sichtbaren Licht-

strahlen, wie aus den Untersuchungen Iamada und Jodlbauers hervorgeht.

Harnstoff, Glykokoll und Phosphate fördern die Zymase in ihrer Wirkung, während sie durch die Sulfate von Na, NH_4 und Mg und durch Kalziumchlorid und Salpeter gehemmt wird.

Chloralhydrat und Chinin in kleineren Dosen fördern die Zymase, da sie die Tryptase ausschalten, die sonst in kurzer Zeit erstere zerstört. Das gleiche gilt für geringe Chloroformmengen. Alkohol bis etwa 15 Proz. wirkt kaum schädigend.

Harden und Young haben nun eine Art „spezifischen Aktivators" für die Zymase im gekochten Hefepreßsaft aufgefunden. Letzterer zeigte sich allein allerdings vollkommen unwirksam, besaß aber die Eigenschaft, das Gärvermögen des frischen Preßsaftes wesentlich zu heben und dessen Haltbarkeit zu erhöhen. Es scheint sich dabei nicht um ein Enzym zu handeln, obwohl der Körper als „Co-Enzym der Zymase" bezeichnet wird. Immerhin ist dieser Aktivator, dessen Natur wir noch wenig kennen, allem Anscheine nach ein integrierender Bestandteil der Zymase, der bei der Gärung verbraucht wird. Er läßt sich von der Zymase durch Filtration durch ein Gelatinefilter trennen. Weder Filtrat noch Rückstand sind dann mehr wirksam; erst eine Mischung beider vergärt wieder im ursprünglichem Maße.

Der Sitz der Zymase ist in der Zelle selbst. So lange die Zelle lebt werden höchstens Spuren derselben nach außen abgegeben. Die Hauptmenge aller vergärbarer Verbindungen muß bei der Gärung durch die lebende Zelle in dieselbe eintreten und die Gärprodukte diffundieren wieder heraus, sofern sie in der Zelle nicht weiter verarbeitet werden.

Ganz allgemein können wir nach E. Fischer sagen, daß die Zymase nur Zucker mit sechs und neun Kohlenstoffatomen zu vergären vermag. Dabei spielt die sterische Beschaffenheit der Hexosen eine hervorragende Rolle. Von allen Aldosen sind vergärbar nur der Traubenzucker (d-Glykose), die d-Galaktose und d-Mannose. Unter den Ketosen kann nur die d-Fruktose als sicher vergärbar angesehen werden.

Durch die alkoholische Gährung entstehen aus Traubenzucker (oder überhaupt aus einem gärfähigen Zucker) Kohlensäure und Äthylalkohol nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Dazu ist zu bemerken, daß diese Aufstellung allerdings eine kleine Einschränkung bedarf, da immer eine Reihe von Nebenprodukten entsteht, auf die später noch eingegangen werden soll.

Diese Reaktion verläuft über intermediäre Produkte, wie Methylglyoxal, Glyzerinaldehyd und Milchsäure. Dieselben werden aber im status nascendi rasch weiter vergoren, weshalb es nicht zur Anhäufung dieser Zwischenprodukte kommt. Diese Zwischenprodukte als fertige Verbindungen sind selbst nicht gärfähig, wenigstens nicht für lebende Hefe. Jensen sieht dagegen als wesentliches Zwischenprodukt Dioxyazeton an, das er tatsächlich nachwies und das dann weiter in Alkohol und Kohlensäure vergoren wird. Ohne auf weitere theoretische Auseinandersetzungen des Gärungsprozesses einzugehen,

können wir im allgemeinen sagen, daß bei der alkoholischen Gärung sicher eine Reihe von Zwischenprodukten entsteht. Daß die Gärung mit Hefepreßsaft in einigen Punkten andere Ergebnisse aufweist als mit den lebenden Hefezellen, hat wohl seinen tieferen Grund darin, weil im ersteren Falle alle Stoffe zur Zymase ungehinderten Zutritt haben, was bei der lebenden Zelle nicht der Fall ist. Die *Nebenprodukte* sind in beiden Fällen auch andere. Hier interessieren uns nur diejenigen der *zellenfreien Gärung*. Da sind vor allem zu nennen *Essigsäure* und *Glyzerin*, dann *Ameisensäure* und *Formaldehyd*.

Es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß die *bakterielle alkoholische Gärung in derselben Weise verläuft* und daß dabei *homologe Enzyme tätig sind*. Wir finden dort dieselben Gärhauptprodukte und Nebenprodukte. Allerdings kommen noch eine Reihe anderer Nebenprodukte dazu, die sich aber bei der durch lebende Hefezellen ausgelösten alkoholischen Gärung einstellen. Sie sind dort wie hier auf besondere Lebensprozesse zurückzuführen und verdanken ihr Entstehen nicht der Zymase.

Im Anschluß an die in Bakterien sichergestellten Enzyme sei an Vorgänge erinnert, die im Leben der Zelle zwar eine außerordentlich wichtige Rolle spielen, deren Enzymnatur aber keineswegs festgestellt ist. Ich meine hier *Reduktionsprozesse*, deren Zustandekommen ebenfalls von einigen Seiten besonderen Enzymen, **Reduktasen**, zugeschrieben wird. In der Tat erleiden leicht reduzierbare Körper, wie *Methylenblau*, *Lackmus*, *Indigokarmin* usw., den Nährsubstraten zugesetzt, beim Wachstum zahlreicher Mikroben eine Umwandlung in die Leukoverbindung, eine Reduktion. Durch Schütteln mit Luft tritt sofort wieder die Färbung auf. Auch den Kultursubstraten zugesetztes selenigsaures oder telurigsaures Natron werden reduziert. Daß sich die Reduktionszone weit über die Wachstumszone des Bakteriums hinaus erstreckt und eine Erhitzung die Wirkung aufhebt, spricht einigermaßen für die Enzymnatur solcher Vorgänge. Mit *Azeton* abgetötete und vorsichtig getrocknete Choleravibrionen und Colibazillen erwiesen sich nach den Untersuchungen von *Chatcart* und *Hahn* als nur wenig reduzierend. Über die *Natur der Bakterienreduktasen* wissen wir noch sehr wenig.

Literatur zur Vorlesung VI, VII und VIII.

Kruse, W., Allgemeine Mikrobiologie. Leipzig 1910.
Fischer, H., Die chemischen Bestandteile der Schyzomyzeten und der Eumyzeten. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 222 ff.
Fuhrmann, F., Vorlesungen über Bakterienenzyme. Jena 1907.
Oppenheimer, C., Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1910.
Höber, Chemie der Zelle. Leipzig 1906.
Nawiaski, P., Über die Umsetzung von Amnosäuren durch Bac. proteus vulgaris. Ein Beitrag zum Stickstoffwechsel der Bakterien. Arch. f. Hyg., Bd. 66, S. 209, 1908.
Euler, H., Allgemeine Chemie der Enzyme. Wiesbaden 1910.

NEUNTE VORLESUNG.

Biologie der Enzymbildung. Toxine. Farbstoffe. Leuchten der Bakterien.

Wie schon mitgeteilt, sind alle Enzyme als Zellprodukte aufzufassen. Sie werden vom lebenden Protoplasma zwar gebildet, äußern ihre Wirkungen aber unabhängig von den lebenden Zellen. Sowohl die Menge eines Enzyms als auch die Bildung desselben überhaupt ist aber von einer Reihe äußerer Bedingungen abhängig. So werden die eiweißspaltenden, proteolytischen Enzyme dann am besten ausgebildet, wenn den Bakterien im allgemeinen komplizierte, eiweißartige Körper im Kultursubstrat in genügender Menge zur Verfügung stehen. Es findet dabei eine gewisse Anpassung statt. Die Bildung von Proteasen erfährt aber eine starke Einschränkung oder kann gänzlich unterdrückt werden, wenn gleichzeitig eine große Menge vergärbarer Kohlehydrate der Bakterienart zur Verfügung steht. Viele Substanzen haben die Eigenschaft, nur die Bildung eines oder mehrerer Enzyme zu hemmen, ohne das Wachstum und die Vermehrung der Bakterien zu beeinträchtigen. Folgendes Beispiel soll dies näher beleuchten.

Es entwickelt sich Bacillus prodigiosus in Nährbouillon mit einem Zusatz von 0,5 Proz. Morphium, Strychnin oder Antipyrin noch gut. Proteasen konnten aber nur in den Kulturen mit Morphium nachgewiesen werden. Bacillus pyocyaneus wächst mit den genannten Zusätzen oder mit beigegebenem Chinin gut, vermag aber sein proteolytisches Enzym sowohl bei Morphium-, als auch Strychnin- und Antipyrinzusatz zu produzieren und wird darin nur vom Chinin gehindert. Der Vibrio der asiatischen Cholera gedeiht in Bouillon mit einem Zusatz von 0,5 Proz. Morphium oder Antipyrin, erzeugt seine Protease aber nur in dem morphinhaltigen Nährsubstrat.

Durch längerdauernde Zucht einer Bakterienart unter ungünstigen äußeren Bedingungen wird ebenfalls eine Verminderung der Proteasenbildung herbeigeführt. So beobachtete man ein Zurückgehen der Fähigkeit zur Gelatineverflüssigung beim Vibrio cholerae und anderen sonst stark leimpeptonisierenden Mikroben. Diese Erscheinung hat ihren Grund in einer mangelhaften Proteasebildung.

Für die Bildung der Kohlehydrat spaltenden und auch gärenden Enzyme kann ganz allgemein die Regel gelten, daß dieselbe durch die Anwesenheit spaltbarer und vergärbarer Verbindungen gefördert wird.

In dieser Hinsicht herrscht eine gewisse Anpassungsfähigkeit, so daß mit Zunahme der vergärbaren Kohlehydrate auch eine Zunahme der Menge des entsprechenden Enzyms einhergeht.

Ganz allgemein werden alle äußeren Faktoren, die das Wachstum ungünstig beeinflussen, auch die Enzymbildung herabsetzen, da ja dieselbe einzig und allein an das Leben der Zelle gebunden ist.

Den Bakterienenzymen in vielen Beziehungen ähnlich sind die

Bakterientoxine.

Es sind dies kompliziert gebaute Gifte von größter Wirksamkeit, die von der Bakterienzelle gebildet und entweder als Endotoxine in der lebenden Zelle zurückgehalten oder als Ektotoxine in das umgebende Substrat abgegeben werden. Sie sind mehr oder weniger thermolabil. Die meisten von ihnen werden schon durch Temperaturen um 60° C innerhalb kurzer Zeit zerstört.

Eine Ausnahme bilden nur die Toxine von Bakterien der Fleischvergiftungen, die sich sogar als kochfest erwiesen. Eine Reindarstellung der Bakterientoxine ist bisher nicht gelungen. Die Untersuchungen mit möglichst gereinigten Toxinen haben aber ergeben, daß es sich um keine Eiweißkörper handelt. Die Konstitution derselben soll nach Ehrlich u. a. so gedacht werden, daß das Giftmolekül eine Atomgruppe besitzt, die die Bindung mit den zu vergiftenden Verbindungen besorgt und einen zweiten Atomkomplex, der das eigentliche giftige Agens ist und seine Wirkung über die bindende Gruppe hinüber auf den angegriffenen Körper äußert. Der Ehrlich'schen Terminologie folgend, heißt der Giftkomplex toxophore Gruppe und der bindende Komplex haptophore Gruppe. Wie die kolossale Giftwirkung dieser Toxine im wesentlichen erfolgt, wissen wir nicht. Soviel geht aber aus den Untersuchungen hervor, daß es Zellgifte sind, die eine ausgesprochene Spezifizität haben. Dieselbe erstreckt sich entweder auf bestimmte Tierarten oder auf bestimmte Zellen verschiedener Tierspezies. So erweist sich das Toxin des Erregers des Tetanus nur wirksam gegen Nervenzellen der verschiedenen Sänger, an denen es tatsächlich verankert wird. Das Toxin des Botulinusbazillus, des Erregers der Wurstvergiftung, verhält sich ebenso. Gegen das Diphtherietoxin erweisen sich wieder nur eine beschränkte Anzahl von Tieren empfindlich, während andere auf dessen Einverleibung nicht reagieren. Im Sinne der obigen Theorie der Konstitution der Toxine können sie ihre Wirkung nur über die haptophore Gruppe hinüber äußern, die natürlich nur mit denjenigen Zellen oder Verbindungen eine Bindung eingehen kann, die entsprechende angreifbare Atomkomplexe aufweisen. Das Gift, bzw. die giftigen Atomkomplexe scheinen übrigens aus mehreren Komponenten mit verschiedener Giftigkeit zu bestehen. Der Tierkörper, dem Bakteriengifte einverleibt werden, reagiert bei nicht tödlicher Vergiftung durch Bildung von Gegengiften, Antitoxinen. Dieselben wirken wieder streng spezifisch gegen das sie verursachende Gift. In Konsequenz mit der obigen Auffassung müssen wir in den Antitoxinen von den tierischen Zellen gebildete und in die Blutbahn abgegebene Stoffe erblicken, die einen zur haptophoren Gruppe des Giftes passenden Atomkomplex aufweisen, so daß sie eine Bindung mit der haptophoren Gruppe des Toxins eingehen und so ein Zusammentreten mit den zu vergiftenden Zellen hintanhalten. Diese

Hypothese rückt eigentlich die Toxine von den Enzymen unüberbrückbar ab. Trotzdem dürfte doch im wesentlichen ein inniger Zusammenhang beider bestehen, dem wir gewiß nahe kommen werden, sobald wir die als Arbeitshypothese sehr wertvolle Erlich'sche Auffassung nicht mehr durch Experimente zu stützen trachten, sondern umgekehrt aus den Experimenten und mit Hilfe der neuen Enzymforschungen die Sachlage unbeeinflußt zu ergründen suchen. Vorläufig ist die Sache noch nicht spruchreif, weshalb darauf nicht näher eingegangen werden kann.

Zu den von der lebenden Zelle erzeugten Stoffen gehören auch die

Bakterienfarbstoffe.

Die Reinkulturen einer großen Anzahl von Bakterien sind durch eine mehr oder weniger intensive Färbung ausgezeichnet. Dabei kann entweder nur der Bakterienrasen gefärbt sein oder der gebildete Farbstoff durchdringt das ganze Nährsubstrat. Im allgemeinen bildet eine Bakterienart immer den gleichen Farbstoff, sofern es überhaupt zur Erzeugung desselben kommt. Dabei kann die Farbe selbst allerdings Variationen aufweisen, die hauptsächlich auf gleichzeitig in der Kultur entstehende saure oder alkalische Stoffwechselprodukte zurückzuführen sind. Die Farbstoffbildung selbst hängt von einer Reihe chemischer und physikalischer Faktoren ab. Dabei ist es einerlei, ob dieselben auch einen wachstumsfördernden Einfluß ausüben oder nicht. Die bei den Bakterien vorkommenden Pigmente zeigen alle Farben des Spektrums und auch braun und schwarz.

Bei den meisten Bakterienarten ist in den Zellen selbst unter dem Mikroskop keine Spur des Farbstoffes zu beobachten. Sie erscheinen völlig farblos. Wohl aber können wir den gebildeten Farbstoff, sofern er in Wasser nicht löslich ist, bei der Untersuchung im hängenden Tropfen als größere und kleinere Krümeln und Bröckeln, die zwischen den Zellen liegen, nachweisen. Es sind auch kristallinische Farbstoffausscheidungen bekannt geworden, wie beispielsweise beim Bacterium polychromicum durch Zickes und Bacillus chloraraphis durch Guignard und Sauvageau.

Von einer Bakterienart wird entweder nur ein einziger Farbstoff gebildet oder aber mehrere, deren Auftreten voneinander ziemlich unabhängig ist. Hierin machen nur die Purpurbakterien eine Ausnahme, die immer gleichzeitig zwei verschiedene Farbstoffe erzeugen, einen roten und einen grünen. Allerdigs scheint das Mischungsverhältnis beider ziemlich beträchtlichen Schwankungen bei den einzelnen Arten zu unterliegen, was sowohl aus spektroskopischen Untersuchungen als auch aus dem Aussehen des als „Bakteriopurpurin" bekannten Gemisches hervorgeht.

Für die Bildung der Pigmente mit Ausnahme des Bakteriopurpurins ist die Anwesenheit des freien Sauerstoffes der Luft unerläßlich. Es scheint, daß aber dazu schon niedrigere Sauerstoffdrucke hinreichen, als wie sie in der Luft herrschen. Außerdem müssen gewisse Verbindungen im Nährboden vorhanden sein, um eine möglichst günstige Farbstoffbildung der Bakterien zu ermöglichen. Es lassen sich da kaum allgemeine Angaben machen, vielleicht noch am ehesten über den Wert des Magnesiumsulfates für die Pigmentbildung. Letzteres ist im allgemeinen

wohl für die allermeisten Bakterienarten bei der Farbstofferzeugung unerläßlich. Außerdem sind dafür wichtig Phosphorverbindungen, besonders das Dikaliumphosphat. Es zeigen aber auch hierin die Bakterien Unterschiede. So hat u. a. Sullivan durch seine Untersuchungen gefunden, daß die Bildung der roten und violetten Pigmente von der Anwesenheit genügender Mengen $MgSO_4$ und K_2HPO_4 abhängig ist. Eine Ausnahme macht der rote Farbstoff der Micrococcus roseus und des Micrococcus mycoides roseus, der nur in Gegenwart von Milchsäure erzeugt wird, was auch für das schwarze Pigment des Bacillus cyaneofluorescens gilt. Die Bildung der gelben Pigmente soll an die Anwesenheit von komplexen Polypeptidverbindungen (Peptone) gebunden sein und durch $MgSO_4$ und K_2HPO_4 nur gefördert werden. Bezüglich der organischen Aminoverbindung kommt Sullivan zum Schlusse, daß für ihre günstige Ausnutzung zur Ernährung und Anregung der Farbstoffbildung das Vorhandensein der Atomgruppen

$$C-O-O-H \text{ und } C=H_2$$

notwendig sei.

Von Einfluß ist auch die Reaktion des Nährsubstrates, da manche Farbstoffe bei saurer Reaktion nicht gebildet werden oder aber nicht in Erscheinung treten.

Von größtem Einfluß auf die Farbstoffbildung ist auch die Züchtungstemperatur. Im allgemeinen findet man die beste Farbstoffproduktion bei Temperaturen unterhalb des Temperaturoptimums für das Wachstum.

Die Farbstoffproduktion ist übrigens bei den Bakterien eine variable Eigenschaft, da bei ein und derselben Bakterienart unter gleichen äußeren Bedingungen häufig große Unterschiede in der Intensität der Farbe auftreten.

Wir dürfen auch mit Recht annehmen, daß zahlreiche Farbstoffe als Leukoverbindung aus der Zelle ausgeschieden werden und erst dann zur gefärbten Verbindung oxydiert werden.

Nach dem eventuellen Nutzen des gebildeten Pigmentes für die Zelle selbst, teilte Beijerinck die farbstoffbildenden und chromogenen Bakterien in drei Gruppen ein. Die erste Gruppe, die „chromophoren Bakterien", umfaßt alle Bakterien, deren Farbstoff eine wesentliche Rolle im Leben der Zelle spielt, also als ein integrierender Zellbestandteil mit dem Protoplasten ungefähr so vereint ist „wie der Chlorophyllfarbstoff mit den Chromatophoren der höheren Pflanzen oder das Hämoglobin mit den Blutkörperchen", wie sich Beijernick ausdrückt. Hierher gehören die Purpurbakterien, deren Farbstoff, das Bakteriopurpurin, tatsächlich im Leben der Zelle lebenswichtige Funktionen auszuüben scheint.

Die Vertreter der zweiten Gruppe der farbstoffbildenden Mikroben, die „chromoparen Bakterien" bilden Farbstoffe, die für das Leben der Zelle unwesentlich sind und einfach als nebensächliche Exkretstoffe aus der Zelle ausgeschieden werden. Allen neueren Forschungen entsprechend, müssen wir hierher **alle** farbstoffbildenden Bakterien, mit Ausnahme der Purpurbakterien, rechnen, da mit Ausnahme des Farbstoffes der letzteren alle Bakterienfarbstoffe keinen irgendwie gearteten Einfluß auf das Leben der sie erzeugenden Zellen auszuüben vermögen. Sie sind rein zufällige Bildungen der Zellen, wie so manche andere.

Beijerinck stellt dann noch als dritte Gruppe der chromogenen Bakterien, die „parachromophoren Bakterien“ auf, deren Farbstoff von der Zelle teils nach außen abgegeben, teils in der Zellwand oder im Zellinnern deponiert bleibt. Nur wenige Vertreter dieser Gruppe gibt es, wie beispielsweise den Bacillus violaceus, der einen violetten Farbstoff erzeugt.

Wir tun besser, die Farbstoffe einfach in wasserlösliche und wasserunlösliche zu trennen. Letztere sind in überwiegender Mehrzahl bei den Bakterien zu finden. Viele von ihnen zeigen die von Zopf angegebene Lipozyaninreaktion. Dieselbe besteht darin, daß konzentrierte Schwefelsäure den roten oder gelben Farbstoff blau färbt. Man hat solche Farbstoffe allgemein als Lipochrome bezeichnet und reiht sie jetzt den „Karotinen“ ein, die man nach Kohl in sauerstoffreie Eukarotine und sauerstoffhaltige Karotine sondert. Die Karotine sind in Alkohol und überhaupt fettlösenden Verbindungen, wie Äther, Benzol, Chloroform, Xylol usw. leicht löslich. Hierher gehören zahlreiche gelbe und rote Farbstoffe von Kokken und Bazillen und auch der rote Teilfarbstoff des Bakteriopurpurins.

Der rote Farbstoff des Bakteriopurpurins (Bacterioerythrin Archichovskijs) ist von Molisch genauer untersucht und vom grünen der Purpurbakterien getrennt worden. Wie schon gesagt, gehört nur der rote Farbstoff, das Bakteriopurpurin im engeren Sinne des Wortes zu den Karotinen. Er kristallisiert aus Chloroform in kleineren und größeren Nadeln und Blättchen, die auch in Schwefelkohlenstoff und Äther leicht löslich sind, während sie in Wasser und Glyzerin unlöslich sind. Das Gleiche gilt für kalten Eisessig. Auch in kaltem, absoluten Alkohol sind sie nur schwer löslich. Molisch hat auch die Absorptionsspektren von Lösungen des Bakterioerythrins von Rhodobacillus palustris einer Untersuchung unterzogen, die ergab, daß zwei deutliche Bänder auftreten, I bei λ 585—555 und II bei λ 540—515, zu denen noch ein drittes undeutlicheres kommt, dessen Lage etwa λ 500—485 entspricht. Aus einer geringen Verschiebung der Bänder ins Violett beim Bakteriorythrin aus einer Rhodospirillenart will Molisch auch auf die Verschiedenheit desselben bei Purpurbakterien schließen. Ich glaube, dieser Schluß ist schon deshalb gewagt, weil wir nach den vorliegenden spektroskopischen Befunden noch viel zu wenig über die feineren Absorptionserscheinungen wissen, um aus so geringfügigen Unterschieden der optischen Erscheinungen so weitgehende Schlüsse zu ziehen. Dazu sind wir erst berechtigt, wenn wir die Spektroskopie dieses Farbstoffes dadurch erschöpfend bearbeitet haben, daß wir ihn bei verschiedenen Konzentrationen in verschiedenen Lösungsmitteln und außerdem noch bei verschiedenen Schichtdicken spektroskopieren. Außerdem ist die Herstellung der sogenannten Grenzverdünnung zur Erkennung aller Einzelheiten der Banden unerläßlich. Dabei ist noch hervorzuheben, daß die Verdünnungen keineswegs durch verminderte Schichtdicken ersetzbar sind. Nur unter Berücksichtigung aller dieser Erscheinungen sind wir in der Lage, das Absorptionsspektrum eines Farbstoffes zu erhalten, das ihn spektroskopisch deffiniert und zu weiteren Vergleichen brauchbar ist, wozu die damit konstruierten Absorptionskurven besonders wertvoll sind. Leider ist darauf bei der Spektroskopie der Farbstoffe des Spirillum rubum, einer anderen Purpurbakterie, von Vahle ebenfalls keine Rücksicht genommen worden.

Zu den Karotinen sicher zu rechnen sind noch die Farbstoffe von Bacterium egregium, Bacterium chrysogloea, Micrococcus aureus, Sarcina aurantiaca und das gelbe, in Kristalldrusen ausgeschiedene Pigment von Bacterium polychromicum (Zickes).

Es findet sich noch eine Reihe wasserunlöslicher Bakterienpigmente, die aber den Karotinen ferner stehen. Das von Molisch aus Purpurbakterie ziemlich rein gewonnene Bakteriochlorin ist, wie schon der Name uns sagt, ein grünes Pigment, das durch starken Alkohol aus den Purpurbakterien ausgezogen wird, wobei allerdings etwas Bakterioerythrin mit in Lösung geht. Es hat mit dem Chlorophyll nichts zu tun. Aus der etwas wasserhaltigen alkoholischen Lösung geht es durch Schütteln mit Benzin, Olivenöl, Terpentin und Chloroform heraus und der Alkohol wird farblos. Spektroskopisch zeigt das Bakterochlorin eine Endabsorption vom äußersten Rot bis λ 650 und vom äußersten Violett bis λ 525. Außerdem zeigt sich ein Absorptionsband (D-Streifen Molisch) von λ 610 bis λ 570. Der Farbstoff ist sehr unbeständig.

Dann ist hier vor allen zu nennen das prachtvoll rote Pigment des Bacillus prodigiosus, das Prodigiosin. Die Lösungen deselben in Alkohol, Chloroform, Äther, Benzol oder Schwefelkohlenstoff sind fuchsinrot. Säuren bewirken in den alkoholischen Lösungen einen Umschlag der

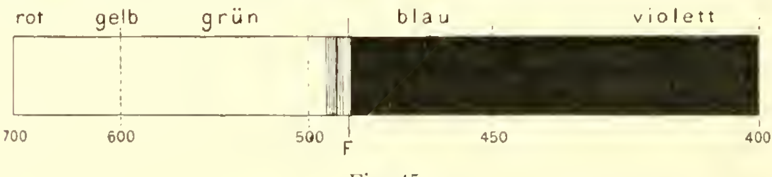


Fig. 45.

Farbe ins Violette, während Alkalien eine gelbrote Verfärbung bewirken. Dabei findet keine Zerstörung des Pigmentes statt, da nach Neutralisation die ursprüngliche Farbe sofort zurück kehrt. Prodigiosin ist eine licht unbeständige Farbe. Nach Griffiths kommt ihm die Formel $C_{38}H_{56}NO_5$ zu, woraus sich ein Stickstoffgehalt von 2,3 % berechnen läßt. Kraft fand einen solchen von 3,9 %. Die Asche enthielt Na, Fe, Cl und P.

Es gibt zahlreiche andere Bakterienarten, die ebenfalls rote Farbstoffe erzeugen, die in vielen Beziehungen dem Prodigiosin nahestehen, aber nicht identisch mit ihm zu sein scheinen.

Griffths untersuchte den orangeroten Farbstoff von Micrococcus glutinis in bezug auf sein chemisches und physikalisches Verhalten.

Derselbe ist in Äther leicht, in Alkohol nur schwierig löslich. Die Elementaranalyse ergab 53,84 Proz. Kohlenstoff und 4,77 Proz. Wasserstoff. Die Stickstoffbestimmung 4,57 Proz. Griffths gibt dem Farbstoff die Formel $C_{14}H_{15}NO_7$, die annähernd auf die Analysenzahlen paßt. Die spektroskopische Untersuchung des Pigmentes in einer Konzentration von 10 Proz. in 10 mm dicker Schicht und ätherischer Lösung ergab vollständige Auslöschung von blau und violett von F ab und ein schmales Band diesseits der Frauenhoferschen Linie F, wie es Figur 45 zeigt. Der Farbstoff erwies sich als optisch aktiv, denn er drehte das polarisierte Licht. Die ätherische Lösung vom spezifischen Gewicht 0,92 mit einem Gehalt von 2,02 g in 100 ccm Lösungsmittel ergab

im 2 Dezimeterrohr eine Drehung von — 2,5° bei 17° C, was einem spezifischen Drehungsvermögen von

$$[\alpha]_D = -68^0\ 75'$$

entspricht.

Man könnte hier noch eine große Anzahl mehr oder minder genau untersuchter Farbstoffe der Bakterien anführen.

Es gibt dann noch einige Bakterienfarbstoffe, die weder in Wasser noch in Alkohol und in fettlösenden Mitteln löslich sind. So löst sich beispielsweise der gelbe Farbstoff des Micrococcus cereus nur in 10proz. Kalilauge, der ebenfalls gelbe Farbstoff des Bacillus luteus nach Garbowski in warmer konzentrierter Essigsäure oder starken, heißen Alkalien (20proz. KOH). Das tief indigoblaue Pigmet der Pseudomonas berolinensis ist nur in Salzsäure löslich.

Von den in Wasser löslichen Farbstoffen sei zuerst ein fluoreszierendes Bakterienpigment, das Bakteriofluoreszein Lehmanns genannt. Es findet sich dasselbe bei zahlreichen Fäulnisbakterien. Das Bakteriofluoreszein ist nach Thumm eine gelbe, in Wasser lösliche Masse, die in fettlösenden Agentien vollständig unlöslich ist. Mit der Konzentration der Lösung ändert sich ein wenig der Farbenton derselben, denn verdünnte Lösungen erscheinen im durchfallenden Licht hellgelb, während konzentrierte orangegelb sind. Die Fluoreszenz der neutralen Lösung ist tiefblau. Sobald man spurweise ansäuert, erlischt die Fluoreszenz sofort und kehrt nach Neutralisation der Säure sofort wieder zurück. In schwach alkalischer Lösung fluoresziert das Pigment in blattgrüner und nach weiterem Alkalizusatz in moosgrüner Farbe. Die chemische Natur des Bakteriofluoreszeins ist noch nicht ermittelt.

Viele fluoreszierende Bakterienarten bilden neben dem Fluoreszein noch andere Farbstoffe. So erzeugt das Bacterium syncyaneum, ein Erreger der Blaufärbung der Milch, neben dem Fluoreszein noch einen wasserlöslichen blauen Farbstoff, das Synzyanin.

Auch vom Erreger des blauen Eiters, der Pseudomonas pyocyanea (oder aeruginosa) wird neben dem Fluoreszein noch mindestens ein zweiter blauer Farbstoff, das Pyocyanin und wahrscheinlich auch ein dritter braunroter, das Pyoxanthin meistens erzeugt. Letzterer soll ein Oxydationsprodukt des Pyocyanins sein. Die chemische Zusammensetzung des Pyocyanins ist noch nicht sichergestellt. Ledderhose isolierte dasselbe aus Kulturen durch Ausschütteln mit Cloroform und stellte das pikrinsaure Salz desselben dar. Daraus bestimmte er als empirische Formel für diesen Farbstoff $C_{13}H_{14}N_2O$.

Es wurde noch eine Reihe von Bakterien bekannt, die andere wasserlösliche Farbstoffe bilden, von denen einige hier aufgeführt seien. So entwickelt das Bacterium erythrogenes, das Milch rot färbt, neben einem wasserunlöslichen Farbstoff ein rotes Pigment, das in den Nährboden diffundiert und diesen weinrot färbt.

Die von Weibel isolierte Microspira nigricans, eine aus Wasser gezüchtete Bakterienart, bildet ein schwarzes Pigment, das den Nährboden dunkel färbt.

Das Bacterium brunneum bildet einen braunen Farbstoff, der ebenfalls den Nährboden dunkel färbt. Nach Thorpe kommt ihm die

Formal $C_{18}H_{14}O_3$ zu. Er soll nach Pfeffers Angaben die Fähigkeit besitzen, Luftsauerstoff zu speichern.

Auch das von Zickes gefundene und untersuchte Bacterium polychromicum bildet neben dem schon genannten wasserunlöslichen Lipoxanthin einen blauen bis rotvioletten, wasserlöslichen Farbstoff, das Erythrojanthin.

Diese wenigen Beispiele werden genügen, die große Verbreitung und Mannigfaltigkeit der Bakterienfarbstoffe darzutun.

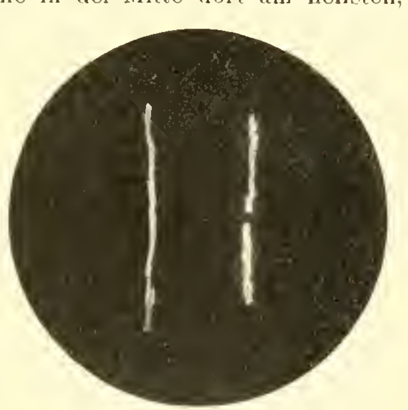
Eine große Anzahl von Bakterienarten vermag unter geeigneten Züchtungsbedingungen und in der freien Natur Licht zu entwickeln. Folgender einfacher Versuch zeigt uns in kurzer Zeit das

Leuchten der Bakterien:

Wir legen ein Stück frischen Seefisches, wie es auf jeden Fischmarkt jetzt leicht erhältlich ist, samt der Haut aber ohne Eingeweide, in eine Schale und übergießen dasselbe mit soviel einer 3 proz. Chlornatriumlösung, daß das Fischstück noch ungefähr einen halben Zentimeter aus der Flüssigkeit hervorragt. Die Schale bedecken wir mit einer lose aufgelegten Glasplatte, um der Luft einigermaßen den Zutritt zu ermöglichen. Dann stellen wir die ganze Versuchsanordnung in einen kühlen Raum mit 4—6 ° C ins Dunkle, zumindest geschützt vor einer direkten Sonnenbestrahlung. Schon nach etwa 12—16 Stunden leuchten die Ränder des Seefisches im Dunkeln prachtvoll in einem grünlichen Licht. Die Lichtwirkung geht von Bakterien aus, die sich besonders an der Oberfläche der Salzlösung am Fischstück ansiedeln. Die verschiedenen leuchtenden Bakterienarten vereint man in der physiologischen Gruppe der „Leuchtbakterien“ oder „Photobakterien“, unter denen wir Kugel-, Stäbchen- und Schraubenbakterien vertreten finden. Sie sind fast ausschließlich Meeresbakterien. Alle Leuchtbakterien leuchten nur unter gewissen Bedingungen. Im allgemeinen verlangen sie dazu in dem Nährsubstrat eine gewisse Menge von Salzen neben den notwendigen Nährstoffen und freiem Luftsauerstoff; letzterer genügt in minimalen Quantitäten. Für alle Leuchtbakterien genügt zum Wachstum und Leuchten ein Kochsalzgehalt der Nährlösung von 2,5 Proz. Er kann aber auch höher sein und bei einigen Arten ohne Schaden auf annähernd 6 Prozent steigen.

Für die Leuchtbakterien scheinen übrigens die Extraktivstoffe des Fleisches sowohl als Lichtnährmittel als auch als Nährmittel für das Wachstum im allgemeinen zu wirken. Für eine sich immer auf Nordseefischen einstellenden Bakterienart kommen dabei nur jene Substanzen in Frage, die in einer Fleischabkochung nach Ausfällung mit Alkohol bei einem Gehalt von 80—85 Proz. des Fällungsmittels noch in Lösung bleiben. Es kann hier nicht auf diese Einzelheiten eingegangen werden; es soll damit aber gezeigt werden, daß die Leuchtbakterien äußerst genügsam sind. Einige brauchen zum Leuchten neben Stickstoffquellen noch besondere Kohlenstoffquellen, von denen diejenigen wahrscheinlich die brauchbarsten sind, die nur wenig vergoren und daher wenig Säure liefern.

Eine für den Leuchtprozeß günstige Aufschließung des Nährbodens bewirken häufig gleichzeitig vorhandene, nicht leuchtende Bakterien, die sich in Rohkulturen von Photobakterien immer als Begleitbakterien einstellen. Wenn man dieselben für sich rein züchtet und dann auf die Reinzucht der Photobakterien einwirken läßt, so bemerkt man ein besseres Leuchten in ihrer Nähe. Folgender Versuch zeigt dies deutlich und klar, wie aus der Abbildung 46 zu entnehmen ist. In einer Petrischale (Figur 46) wurde eine sterile Agarplatte gegossen, auf die zwei Impfstriche mit Leuchtbakterienreinkultur hergestellt wurden. Gleichzeitig wurde darauf durch die Mitte senkrecht auf die Leuchtbakterienimpfstriche ein Impfstrich mit der Begleitbakterie gemacht. Wo sich die Impfstriche kreuzen, gewahren wir das stärkste Leuchten. In der Figur 46 ist ein Photogramm abgebildet, das im eigenen Licht der Bakterien aufgenommen worden war. Wir sehen die weiß erscheinenden senkrechten Impfstriche in der Mitte dort am hellsten, der wo quer darauf gezogene Impfstrich sie rechtwinklich kreuzt. Die Auflagerung der Begleitbakterien ist nur wenig bemerkbar.


Fig. 46.

Alle Versuche, die mit Leuchtbakterien angestellt wurden, legen den Gedanken nahe, daß das Leuchten bei den Bakterien auf eine besondere Substanz zurückzuführen ist, das Photogen. Dasselbe wird in der Zelle gebildet und leuchtet auch nur in der lebenden Zelle. Es war bisher nicht möglich, diesen hypothetischen Leuchtstoff von der Zelle zu trennen. Er ist als Produkt des lebenden Organismus aufzufassen, das für das Leben selbst kaum irgend wie in Betracht kommt. Die Leuchtbakterien verlieren in den Laboratoriumskulturen häufig bei sehr lange fortgesetzter Zucht auf den künstlichen Nährsubstraten das Leuchtvermögen dauernd, ohne daß im sonstigen Wachstum Hemmungen zu beobachten wären. Der Leuchtstoff muß in der Zelle als nicht leuchtende Verbindung fertig gebildet werden, die erst durch das Hinzutreten des Luftsauerstoffes in minimalen Mengen zur Zelle sozusagen in die leuchtende Modifikation übergeführt wird. Dies zeigt deutlich folgender Versuch mit einer auf Nordseefischen regelmäßig vorkommenden Leuchtbakterienart, Pseudomonas photogena Fuhrmann. Diese Art wächst auch unter völligem Abschluß des Luftsauerstoffes in der zugeschmolzenen Buchner'schen Röhre. Die Kultur wird auf Fischfleischwasser — Agar mit 3 Proz. Chlornatriumgehalt angelegt und sofort in die Buchner'sche Röhre gegeben, die zur Entfernung des Sauerstoffes der Luft eine alkalische Pyrogallollösung enthält. Selbst die dichtest sitzenden Kautschukstopfen genügen trotz Einfettens nicht, den Zutritt des Sauerstoffes gänzlich zu verhindern, weshalb für diesen Versuch die Röhre zugeschmolzen wird. Nach etwa 24 Stunden hat sich über die ganze Oberfläche ein nicht leuchtender Kulturrasen des Photobakteriums gebildet. Sobald man im Finstern die Röhre durch Absprengen der Verschmelzungs-

stelle öffnet, flammt im Augenblick des Öffnens die ganze Kultur auf. Es ist dies eines der elegantesten Vorlesungsexperimente mit diesen Bakterien. Der Versuch sagt uns, daß das Photogen zwar ohne jeden Sauerstoff der Luft gebildet wird, aber erst leuchtet, wenn dieser zur Kultur Zutritt hat. Bringt man umgekehrt eine gut leuchtende Kultur in die Buchner'sche Röhre, dann verschwindet allmählich das Leuchten und erscheint erst, wenn wieder Sauerstoff zugeführt wird. Daß beim Leuchtprozeß Sauerstoff verbraucht wird, zeigt auch der Versuch mit flüssigen Leuchtbakterienkulturen in dem langen, einseitig verschlossenen Glasrohr nach Molisch. Die Kultur leuchtet in der Röhre nur oben an der Berührungsstelle mit der Luft. Verschließt man das Rohr mit dem Finger und dreht es um 180°, so daß eine Luftblase durch die Kultur aufsteigt, dann leuchtet sie der ganzen Länge nach auf. Es dauert aber nur wenige Minuten bis zum Erlöschen des Lichtes, das erst wieder durch eine neue sauerstoffhaltige Luftblase ausgelöst wird. Wie schon gesagt, genügen zur Auslösung des Leuchtphänomens die denkbar geringsten Sauerstoffmengen. Bekommt die oben genannte, zugeschmolzene Buchnerröhre nur den kleinsten Sprung an der Abschmelzstelle, so leuchten die darin befindlichen Photobakterien sofort. Die Leuchtbakterien sind demnach tatsächlich das feinste und empfindlichste Reagens auf freien Sauerstoff. Auf das Leuchten der Bakterien wirken eine Reihe chemischer und physikalischer Einflüsse ein.

Freie Säuren beeinflussen den Leuchtprozeß schon in geringen Mengen sehr ungünstig. Eine neutrale oder schwach alkalische Reaktion ist dagegen außerordentlich günstig. Chloroform oder Äther behindert in größeren Mengen das Leuchten, während sehr geringe Mengen kaum schädlich wirken. Äthylalkokol wirkt in Dosen bis zu etwa 2 Proz. günstig auf die Lichtentwicklung. Erst sehr große Mengen (etwa 16 bis 20 Proz.) bringen dieselbe dauernd zum Verschwinden.

Sehr abhängig ist die Lichtentwicklung von der Temperatur. Lange bevor eine Temperatur erreicht, die die Bakterien selbst tötet, erlischt das Licht. Wiederabkühlung bringt sofort das Leuchten wieder hervor, sofern die Erwärmung unter der Tötungstemperatur der Bakterien blieb. Die Lichtentwicklung erfolgt aber noch in sehr tiefen Temperaturen, bei denen die Kultur längst eingefroren ist. Schätzungsweise leuchten die Bakterien noch bei etwa 30—40° unter Null. Läßt man Leuchtbakterienkulturen in flüssiger Luft einfrieren, so erlischt bei dieser tiefen Temperatur (— 190°) das Bakterienlicht, erscheint aber beim Auftauen wieder.

Andere Lichtquellen, Sonnenlicht usw. beeinflußt das Bakterienlicht anscheinend nicht. Übrigens wissen wir darüber wenig, da Spezialuntersuchungen darüber ausstehen.

Stoßwirkungen üben auf das Bakterienlicht ebenfalls keinen bemerkbaren Einfluß aus, desgleichen höhere Drucke.

Der elektrische Strom wirkt nur sekundär auf das Leuchten ein, indem bei dessen Durchtritt durch die Kultur elektrolytische Vorgänge ausgelöst werden, deren Produkte hinderlich oder fördernd in den Leuchtprozeß eingreifen.

Wir wollen gleich hier kurz die Eigenschaften des Bakterienlichtes erörtern.

Die Farbe des Bakterienlichtes variiert von bläulichweiß bis gelblichweiß, entsprechend der Ernährung und dem momentanen Zustand des Auges des Beobachters. Hat sich das Auge an Petroleumlicht, Auerlicht oder elektrisches Glühlicht gewöhnt, dann erscheint das Bakterienlicht mehr bläulich. Kommt man aber von Räumen, die von Tageslicht oder vom elektrischen Bogenlicht erhellt sind, in die Dunkelkammer, dann erscheint das Bakterienlicht mehr reinweiß oder mit einem Stich ins Gelbliche. Auf den Zustand des Auges hat übrigens schon Molisch aufmerksam gemacht. Das Licht der schon genannten Pseudomonas photogena ist übrigens immer stark bläulich, was man am besten an Massenkulturen in sehr verdünntem Fischfleischwasser, die im Halbdunkel gehalten werden, beobachten kann.

Das Licht der Bakterien ist ruhig, gleichmäßig, ohne irgendwie zu wallen.

Die Intensität des Bakterienlichtes mancher Arten ist so groß, daß man mit Hilfe einer kleinen Gelatinekultur sehr gut die Taschenuhr ablesen oder einen größeren Druck lesen kann. Das Licht der Photobakterien hat ein kontinuierliches Spektrum, das arm an roten und orangegefärbten Strahlen ist. Nach Molisch reicht das Spektrum bei subjektiver Beobachtung etwa von λ 570 bis λ 450. In Figur 47 ist unten das

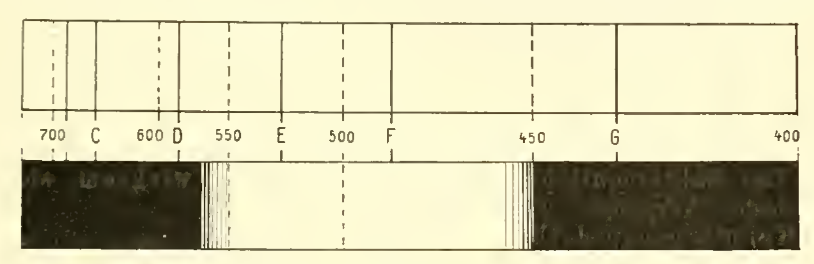


Fig. 47.

Spektrum vom Licht des Bacterium phosphoreum nach Molisch wiedergegeben. Die obere Zeichnung entspricht dem Sonnenspektrum. Es sind einzelne Wellenlängen in $\mu\mu$ und die Fraunhofer'schen Hauptlinien *C—G* eingetragen. Im Spektrum des Bakterienlichtes sieht man keine Linien und kann auch wegen der sehr geringen Lichtstärke desselben die Grenze des sichtbaren Teiles schwer exakt bestimmen. Jedenfalls reicht es weiter ins dunkelblau und violett hinaus. Schon die Empfindlichkeit der photographischen Bromsilberplatte für Bakterienlicht spricht dafür, da bekanntlich eine Bromsilbergelatineemulsion, wie sie in der gewöhnlichen photographischen Platte vorliegt, ihr Empfindlichkeitsmaximum um 450 $\mu\mu$ Wellenlänge aufweist. Gerade dort erscheint das Spektrum des Bakterienlichtes schon sehr dunkel, wie aus den Angaben von Molisch zu entnehmen ist. Wie empfindlich die photographische Platte für Bakterienlicht ist, geht daraus hervor, daß hinter einem normalen Negativ mit einem kleinen Erlenmeyerkolben voll Bouillonkultur von Pseudomonas photogena auf einer Photographenplatte mittlerer Empfindlichkeit ein Positiv in 5—10 Sekunden gut ausexponiert ist.

Wir können die Leuchtbakterienkulturen auch im eigenen Lichte photographieren, wie es bei der Herstellung der Figuren 48 und 49 geschehen ist. In der erstgenannten Figur sehen wir die Bakte-

rienkolonien als kleine helle Pünktchen auf dunklen Grund. Außerdem können wir bei genauerem Zusehen noch weniger helle Punkte beobachten, die nichtleuchtenden Bakterienkolonien entsprechen. Es wurde einfach eine Gelatineplatte mit verunreinigtem leuchtenden Material vom Seefische gegossen und nach dem Angehen der Kolonien in der Dunkelkammer ohne andere Lichtquelle photographiert. In der Figur 49 ist bei *A* das im eigenen Lichte hergestellte Photogramm einer Gelatinestrichkultur, in *B* einer Agarstrichkultur wiedergegeben. Hier sieht man auch ein wenig den von der leuchtenden Auflagerung erhellten Nährboden und teilweise die Konturen des Proberöhrchens. Wie Molisch gezeigt hat, kann man auch vom Bakterienlicht bestrahlte Gegenstände photographieren, wozu aber enorm lange Belichtungszeiten erforderlich sind.



Fig. 48.

Das Bakterienlicht ist auch physiologisch wirksam, wie aus zahlreichen Versuchen von Molisch mit Keimlingen und Clautriau mit

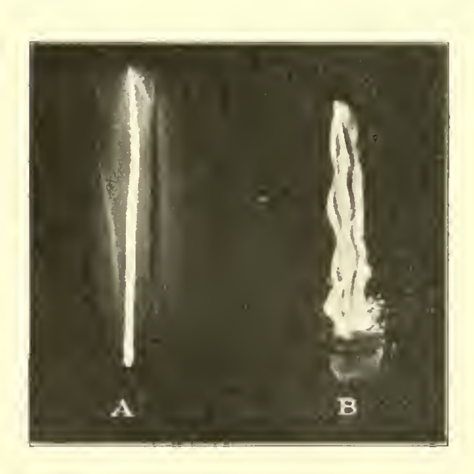


Fig. 49.



Fig. 50.

Phycomyces nitens hervorgeht. Es löst an den besonders lichtempfindlichen Keimlingen einen Heliotropismus aus. Man verwendet zu diesen Versuchen 2—5 cm lange Keimlinge von der Erbse, Wicke oder

Linse. In Figur 50 ist das Endergebnis eines solchen Versuches photographisch dargestellt. Dazu dienten Linsenkeimlinge, die in einem vollständig dunklen Keimbette zum Keimen gebracht worden waren. Nachdem sie eine Länge von etwa 4—5 cm aufwiesen, wurde in das Keimbett, wieder unter vollständigem Lichtabschluß, eine gut leuchtende Agarstrichkultur von Pseudomonas photogena gebracht. Die früher vollständig lotrecht gewachsenen Keimlinge haben sich innerhalb 36 Stunden der leuchtenden Kultur zugebogen, wie es eben Figur 50 erkennen läßt. Ein Ergrünen erfolgte aber nicht, was auch schon Molisch für seine Untersuchungen in dieser Hinsicht angibt.

Literatur zur Vorlesung IX.

Griffths, A., B., On Micrococcus glutinis: a new chromogenic microbe. Chemical News, Bd. 91, S. 97, 1905.

Molisch, H., Die Purpurbakterien, Jena 1907.

Fischer, H., Die chemischen Bestandteile der Schizomyzeten und Eumyzeten. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 277 ff.

Molisch, H., Leuchtende Pflanzen, Jena 1907.

Auch die Literatur zu den Vorlesungen VI—VIII gilt für hier.

ZEHNTE VORLESUNG.

Physikalische Eigenschaften der Bakterienzelle.

Das spezifische Gewicht der lebenden Bakterienoidien dürfte wohl in allen Fällen größer als Eins sein. Natürlich kann man nicht unmittelbar vom spezifischen Gewicht des Kulturrasens auf dasjenige der ihn zusammensetzenden Zellen schließen, da er neben Bakterienzellen noch eine Reihe anderer Stoffe enthält. Für Kulturrasen auf Agarnährböden liegen eine Anzahl von Bestimmungen des spezifischen Gewichtes von Stigell vor, aus denen eine kleine Auswahl hier wiedergegeben sei.

	Alter der Kultur:	
	80 Tage	40 Tage
Vibrio aquatilis	1,315	1,274
Sarcina flava	1,164	1,177
Bacillus acidi lactici	1,138	1,141
Bacillus prodigiosus	1,245	1,177
Bacillus butyricus Hueppe . .	1,135	1,219
Bacillus subtilis	1,120	1,134

Aus obiger Zusammenstellung geht schon die Verschiedenheit der spezifischen Gewichte von Kulturrasen verschiedenen Alters ein und derselben Bakterienart und gleichen Alters von verschiedenen Bakterienarten hervor. Die Oberflächenhäutchen auf Nährbouillon ergeben Werte unter Eins. Wieder anders verhalten sich in dieser Hinsicht die in flüssigen Kulturen auftretenden Bodensätze.

Rechnerisch ergab sich nach Stigell für das spezifische Gewicht der vegetativen Zelle von Pseudomonas pyocyanea 1,057.

Das spezifische Gewicht der Bakteriensporen ist im allgemeinen viel größer als dasjenige der vegetativen Zellen. Almquist bestimmte dasselbe für die Sporen des Bacillus subtilis (Heubazillus) mit 1,39—1,40. Er benutzte dazu die Schwebefähigkeit der Sporen in einer Salzlösung von dem gleichen spezifischen Gewicht der Sporen.

Das Lichtbrechungsvermögen der vegetativen Bakterienzelle ist, abgesehen von besonders stark lichtbrechenden Einschlüssen, gering. Ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen besitzt im allgemeinen die

Zellhaut der Bakterien. Übrigens verhalten sich in dieser Hinsicht die Bakterien etwas verschieden. Besonders auffallend ist das große Lichtbrechungsvermögen der Membran des Anthraxbakteriums, das noch höher ist als flüssige Karbolsäure, der ein Brechungsindex von 1,15 zukommt. In Karbolsäure eingeschlossen zeigen die Anthraxbakterien aus diesem Grunde noch die Konturen ihrer Zellhaut, obwohl das Zellinnere nicht mehr sichtbar ist. Die Bakteriensporen besitzen ein außerordentlich großes Lichtbrechungsvermögen. Sie erscheinen deshalb grünlich glänzend, wie Fettröpfchen.

Die Bakterienzelle stellt, wie die Zelle der höheren Pflanzen, ein osmotisches System vor, das im wesentlichen aus einer protoplasmatischen Grenzschicht besteht, die der Zellwand anliegt, und aus einem oder mehreren innen im Protoplasma liegenden Safträumen. Außerdem muß die äußere Grenzschicht zwar eine unbegrenzte Durchlässigkeit für Wasser besitzen, aber eine beschränkte für die im Wasser gelösten Verbindungen (Salze usw.). Die Zelle kann nur als osmotisches System wirken, wenn sie sich in Wasser oder wässerigen Lösungen befindet, was ja bei Bakterien immer zutrifft. Mit Alfred Fischer können wir sagen:

„Das Wesen des osmotischen Zellsystems beruht also darauf, daß in das Lösungsmittel Wasser eine von Wasser durchsetzte Blase (der Protoplasmaschlauch) eingetaucht ist und daß diese Blase eine Lösung verschiedener Stoffe umschließt, die nach Diffusionsgesetzen in das umgebende Wasser sich ausbreiten möchten, daran aber durch die mehr oder weniger große Impermeabilität der Blase verhindert werden."

Auf diese Weise entsteht im Innern der Zelle ein Druck, der osmotische Druck, der abhängig ist vom Grade der Impermeabilität oder der Durchlässigkeit der Grenzschichte für die druckerzeugenden gelösten Verbindungen und letzteren selbst. Die Summe aller dieser von den verschiedenen Stoffen im Innern der Zelle erzeugten Teildrucke oder Partiardrucke ist die Größe des osmotischen Druckes. Dieser Druck lastet auf der Zellwand, die also als resistente Stütze des Protoplasten aufzufassen ist. Die lebende Zelle befindet sich normal ständig in einem solchen Spannungszustande, den man als ihren Turgor bezeichnet. Die Größe des Turgors ist also gleich der Größe des osmotischen Druckes, die in toto gemessen oder für jeden gelösten Stoff auch einzelne bestimmt werden kann.

Man hat nun festgestellt, daß z. B. eine $^1/_{10}$ normale Kalisalpeterlösung auf eine für dieses Salz impermeable Wand einen Druck von 3,5 Atmosphären ausübt. Die physikalische Chemie lehrt uns weiter, daß alle äquimolekulären Lösungen der Alkalisalze einbasischer Säuren den gleich großen osmotischen Druck entwickeln, also in $^1/_{10}$ Normal- oder Molekularlösungen 3,5 Atmosphären; denselben Druck erzeugen 0,075 normale Lösungen von Alkalisalzen mit zweibasischen Säuren, und 0,15 normale Lösungen von organischen Substanzen ohne Metall. Man bezeichnet alle gleich osmotisch wirksamen Lösungen als isosmotisch oder isotonisch; werden zwei Lösungen mit verschiedenem osmotischen Druck miteinander vergleichen, so heißt diejenige mit größerer osmotischer Wirksamkeit hyperosmotisch oder hypertonisch gegenüber jener mit geringerem osmotischen Druck, die als hypotonisch oder hyposmotisch zu bezeichnen ist.

Da sich die Bakterien stets in osmotisch wirksamen Lösungen befinden, so wird auch von Außen her auf die Zellwand ein gewisser Druck herrschen, dessen Größe wieder der Summe der Partiardrucke der einzelnen gelösten Stoffe entspricht. Normal werden außen immer niederere Drucke herrschen als im Innern der Bakterienzelle. Die Druckgröße wird also im Innern das positive Vorzeichen aufweisen.

Wenn nun der umgekehrte Fall eintritt, indem die Bakterienzellen plötzlich in eine hyperosmotische Lösung gebracht werden, so entsteht im Innern ein negativer Druck, der sich dadurch bemerkbar machen wird, daß der Protoplast von der Zellwand abweicht und unter Wasserabgabe sich zusammenzieht. Diese Schrumpfung geht solange weiter, bis durch die Wasserabgabe die Konzentration im Innern so groß geworden ist, als dem außen wirkenden osmotischen Druck entspricht. Man bezeichnet diese Zusammenziehung des Protoplasmas als Plasmolyse, weil sich dabei dasselbe von der Zellwand abhebt.

Man kann nun mit Hilfe der Plasmolyse den osmotischen Innendruck bei allen plasmolysierbaren Bakterien messen. Diese Messungen ergeben sehr große Werte für den Turgor. Nach A. Fischer besitzt der Choleravibrio bei der Zucht auf Nähragar, dessen Stoffe selbst einen osmotischen Druck von 0,04 Normal-Chlornatriumlösung aufweisen, einen Turgor von 1,4—2,1 Atmosphären, was auf 1 μ^2 Wandfläche 0,018 mg ergibt.

Den osmotisch wirksamen Lösungen gegenüber verhalten sich die Bakterien nun verschieden. Substanzen werden in hyperosmotischen Lösungen nur dann die Bakterienzellen plasmolysieren können, wenn der Protoplast für sie einen gewissen Grad von Impermeabilität oder Undurchlässigkeit besitzt. Ist dies nicht der Fall, ist die Zelle für den betreffenden Stoff also vollkommen permeabel, dann wird jede plasmolytische Erscheinung ausbleiben. Der Stoff geht ungehindert durch die Zelle hindurch, weshalb irgend eine Beeinflussung des Innendruckes ausgeschlossen ist. Die Impermeabilität der Zelle für gewisse Stoffe ist aber keine konstante Eigenschaft; auch die Größe derselben unterliegt nennenswerten Schwankungen, die im Alter der Zellen und ihrer Ernährung ihren hauptsächlichsten Grund haben. Auch das Zurückgehen der Plasmolyse nach einiger Zeit beim längeren Verweilen der Bakterienzellen in hyperosmotischen Lösungen ist auf ein Nachlassen der Impermeabilität zurückzuführen. Es liegt hierin eine große Anpassungsfähigkeit der Mikroorganismen an Konzentrationsänderungen in den sie umgebenden Lösungen. Dadurch sind sie auch in der Lage, trotz plötzlich eingreifender starker Konzentrationsänderungen ihr Protoplasma vor zu großen Außen- und Innendrucken bis zu einem gewissen Grade zu schützen. Dies gilt besonders für den plötzlichen Übergang von Zellen aus hyperosmotischen in hyposmotische Lösungen. Sind die Unterschiede zu groß, dann findet allerdings mitunter eine Zerreißung des Protoplasten innerhalb der Zellmembran statt, die zum Tode führt.

Wenn wir die verschiedenen Bakterienarten auf ihre Plasmolysierfähigkeit prüfen, so finden wir, daß zwei große Gruppen derselben bestehen. Wir können dieselben mit A. Fischer als permeable Bakteriengruppe und impermeable Bakteriengruppe bezeichnen.

Die Vertreter der permeablen Bakteriengruppe erweisen sich als völlig durchlässig für die Lösungen anorganischer

Salze, Zucker und anderer Verbindungen. Sie lassen sich also überhaupt nicht mit den bekannten Hilfsmitteln plasmolysieren. Sie besitzen trotzdem einen Turgor, der aber auf uns derzeit noch unbekannte, osmotisch wirksame Stoffe zurückzuführen ist. Als typischer Vertreter dieser Gruppe ist das Bacterium Anthracis anzusehen. A. Fischer gibt noch eine Reihe anderer Bakterienarten an, die ebenfalls nicht plasmolysierbar sind.

Die Vertreter der impermeablen Bakteriengruppe lassen sich mehr oder minder leicht in hyperosmotischen Salzlösungen plasmolysieren. Der Hauptrepräsentant dafür ist der Vibrio der asiatischen Cholera, dann das Spirillum volutans und eine große Anzahl anderer Bakterien, wie A. Fischer ermittelte.

Es gibt noch eine Reihe osmotisch wirksamer Stoffe, die aber bei den Bakterien keine Plasmolyse auszulösen vermögen. Es sind dies vor allem Glyzerin, Chloralhydrat, Harnstoff und Antipyrin. Für sie ist die Bakterienzelle total durchlässig oder permeabel.

Die Gesetze der Plasmolyse, die für die Zellen der höheren Pflanzen gelten, sind übrigens nur mit kleinen Einschränkungen für die Bakterienzelle gültig, da hier die Verhältnisse doch etwas anders liegen. Die aus Zellulose bestehende Membran der Zelle höherer Pflanzen kann als total permeabel für die verschiedenen Lösungen gelten; die nicht aus Zellulose aufgebauten Zellwände der Bakterien scheinen sich insofern etwas anders zu verhalten, als Schwermetallsalze und besonders Jodlösungen von Bakterienzellwänden mehr oder minder stark zurückgehalten werden.

Gerade die osmotischen Verhältnisse bei den Bakterien sind für die richtige Erkenntnis und praktische Beurteilung von Gärungsvorgängen sehr wichtig, da ja die Gärsubstrate hochosmotisch wirksame Lösungen sind, was bei der Anstellung des Gärgutes nicht außer Acht gelassen werden darf.

Wir haben noch die

Bewegung der Bakterien

als physikalische Eigenschaft kurz zu erörtern. Daß die Eigenbewegung der meisten beweglichen Bakterien auf besondere Bewegungsorganellen, die Geißeln, zurückzuführen ist, haben wir schon gehört. Auch deren Bau wurde schon beschrieben. Wir haben hier nur die Tätigkeit derselben und die Art der Bewegung selbst zu berücksichtigen. Die Art und Weise der Fortbewegung ist nun abhängig von der Stellung der Geißeln am Bakterienkörper und von der Form des letzteren. Die Form spielt dabei aber nur eine untergeordnete Rolle. Wenn wir die Bakterien in ihrer Bewegung betrachten, so finden wir bei ihnen entsprechend ihrer Begeißelung verschiedene Bewegungsbahnen, die sie zurücklegen. Am auffälligsten ist die Bewegungsbahn der Vibrionen oder Kommabazillen. Sie bewegen sich in gekrümmten Bahnen, so daß sie während der Bewegung dem Beobachter fortwährend entschwinden und gleich darauf wieder vor die Augen kommen. Robert Koch hat die Bewegung dieser Bakterien sehr treffend mit derjenigen eines tanzenden Mückenschwarmes verglichen. Viel anders bewegen sich die verschiedenen Stäbchenbakterien,

die an einem Pole ein Büschel von Geißeln tragen. Gewöhnlich fahren sie entweder in geraden Linien durchs Gesichtsfeld oder ihr Körper pendelt dabei anscheinend hin und her. Letzteres beobachtet man besonders häufig an den peritrich begeißelten Stäbchenbakterien.

Einen besseren Einblick in die Art der Bewegung und in die Funktion der Geißeln selbst erhalten wir, wenn wir sie mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung im Ultramikroskop in der Tätigkeit beobachten. Reichert hat eine große Anzahl solcher Untersuchungen ausgeführt und kam dabei zu einer Reihe von Ergebnissen über die Natur der Bakterienbewegung, die im folgenden kurz wiedergegeben seien. Im allgemeinen kommt die Bewegung dadurch zustande, daß um die Geißel herum fortwährend Kontraktionslinien laufen. Die Geißel selbst ist in der Bewegung immer eine rechtsläufige Schraube, wozu bemerkt sei, daß die Orientierung so zu verstehen ist, daß der Beobachter der Geißel nachblickt. In diesem Falle muß sich ein Punkt, der sich auf der Geißelschraube vom Beobachter wegbewegt, von links über oben nach rechts über unten weitergehen, also im Sinne des Uhrzeigers. Für die linksläufige Schraube gilt das Umgekehrte. Die durch die Kontraktion ausgelösten Kräfte bewirken eine Rotation der Geißel, durch die die Bakterienzelle entweder weitergeschoben oder nachgezogen wird. In letzterem Falle geht also die Geißel voran. Außerdem greifen die wirksamen Kräfte auf die Zelle noch insofern an, als Drehungen der Zellen zustande kommen. Die Krümmungshöhe der Geißelschraube ist ebenfalls bedingt durch die Schnelligkeit der aufeinanderfolgenden Kontraktionsimpulse. Von ihnen hängt natürlich auch die Geschwindigkeit der Fortbewegung der Zelle ab. Ganz allgemein gelten diese Gesetze für alle Bakterienbewegungen, die durch Geißeln hervorgebracht werden, einerlei ob nur eine polare Geißel vorhanden ist oder viele Geißeln um die Zelle herum.

Im Einzelnen liegen die Verhältnisse bei den Schraubenbakterien folgendermaßen:

Die Vibrionen, also Bakterien, deren Körper nur Teile eines Schraubenumganges ausmachen, besitzen meist nur eine sehr starke Geißel an einem Pole, die ständig vom Körper in seiner Verlängerung weggestreckt getragen wird. Hier geht in der Bewegung die Geißel entweder voran oder wird nachgeschleppt. Da es sich bei der Geißel um eine rechtsgewundene Schraube handelt, so muß im ersteren Falle die Kontraktionslinie links herum verlaufen, im letzteren rechts. Der Körper selbst wird dabei jederzeit in eine Linksrotation um seine Achse während der Bewegung versetzt.

Die Spirillen besitzen im allgemeinen ein polares Büschel von rechtsgewundenen Geißelfäden, die während der Bewegung zum primären Geißelzopf zusammengelegt werden. Derselbe wird aber ständig nachgeschleppt, einerlei ob der begeißelte oder nicht begeißelte Pol der Zelle vorangeht. Man beobachtet bei der Umkehrung der Bewegung keine Wendung der ganzen Zelle, sondern nur ein momentanes Stillstehen der Zellen und dann die Rückbewegung, bei der der früher vorangegangene Zellpol jetzt nachgezogen wird. Im Augenblick der Umkehr der Bewegung wird der Geißelzopf nach vorn geschlagen, und rotiert wieder rechtsläufig, der Bakterienkörper links herum um seine Achse. Folgende Figur 51, die nach Reichert entworfen ist, veranschaulicht diese Verhältnisse. Die

geraden Pfeile geben die Bewegungsrichtung der Zellen an, die runden punktierten die Rotationsrichtung des Bakterienkörpers während der Fortbewegung und die vollausgezogenen runden Pfeile die Drehungsrichtung der Geißeln. Hier wie bei den Vibrionen umschreiben die Geißeln nach hinten offene Hohlkörper, deren Spitzen im Insertionspunkte der Geißeln liegen.

Die Bewegungserscheinungen bei den polar begeißelten Stäbchenbakterien (Pseudomonasarten) liegen etwa in der Mitte zwischen denjenigen der Schraubenbakterien und denjenigen der Vibrionen. Bei ihnen wird in der Bewegung der Geißelzopf in der Regel nachgezogen; seltener geht er voraus. An diesen Bakterien beobachten wir meist sog. „Trichterbewegungen" des Körpers, die auf die „Quer-

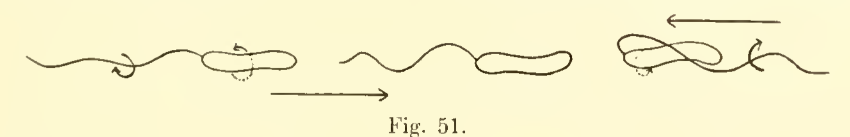


Fig. 51.

komponenten" der an der Geißel wirkenden Kräftepaare zurückzuführen sind. Diese Querkomponenten wirken senkrecht auf die Achse der Zellen ein. Nach Reichert können wir die an den polar begeißelten Stäbchenbakterien auftretenden Nebenbewegungen bei dem Vorwärtsgleiten kurz folgendermaßen skizzieren: „Bei den polar begeißelten Bakterien findet

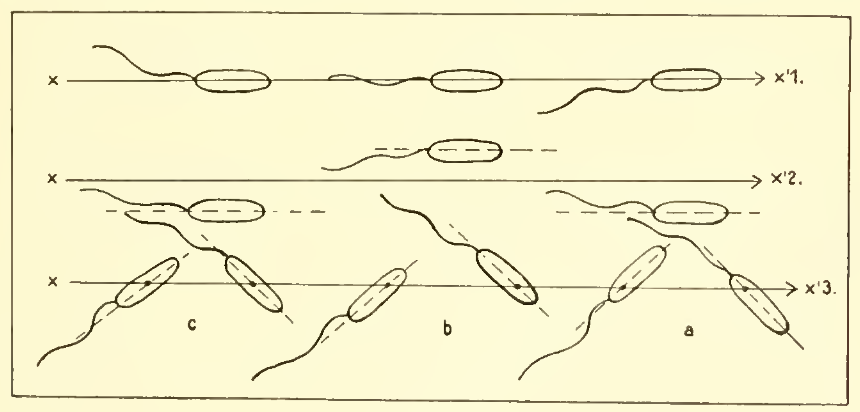


Fig. 52.

bei der Vorwärtsbewegung stets Drehung des Körpers um seine Längsachse statt. Dabei kann die Längsachse

1. in der Bahn der Vorwärtsbewegung verbleiben;
2. um die Bahn als Achse rotieren, so daß sie dieser stets parallel bleibt;
3. ebenfalls um die Bahn als Achse rotieren, sie bleibt derselben jedoch nicht parallel:
   a) das vordere Ende der Längsachse weicht mehr von der Bahn ab als das hintere,
   b) das hintere Ende weicht mehr ab als das vordere,
   c) beide Enden bleiben gleich weit von der Bahn entfernt."

In Figur 52 ist der Versuch gemacht, die eben erläuterten Verhältnisse schematisch darzustellen. In 1 dieser Figur verbleibt die Längsachse des sich bewegenden Bakteriums in der Bewegungsbahn xx', wobei es sich in der Pfeilrichtung bewegt. Es fällt also die Bakterienlängsachse mit der Bewegungsbahn ständig zusammen. Bei 2 verläuft die Längsachse des Stäbchens (gestrichelt gezeichnet) mit der Achse der Bewegungsbahn (xx') parallel. In 3 endlich ist die Stäbchenachse (ebenfalls gestrichelt gezeichnet) zur Bewegungsbahnachse geneigt. Es geht in diesem Falle die Achse der Bewegungsbahn stets durch einen gleichen Punkt der Stäbchenbakterie, der irgendwo in der Längsachse derselben liegt. Je nach der Lage desselben wird das vordere Ende mehr oder weniger als das Hinterende des Stäbchens von der Bahn abweichen oder endlich beide gleichweit (*a, b, c*). Es kommt dabei zu den oben genannten Trichterbewegungen. Die Zellpole beschreiben bei der Fortbewegung in diesem Falle Schraubenlinien.

Die Beobachtung der Bewegungserscheinungen an peritrich begeißelten Bakterien hat ergeben, daß auch sie bei der Bewegung eine Rotation des Körpers links herum vollführen, der auch die allseits an der Längswand entspringenden Geißeln folgen. Die in der Bewegung zu mehreren Zöpfen oder bei geringer Geißelzahl zu einem Zopf zusammengefalteten Geißeln sind in der Tätigkeit immer nach

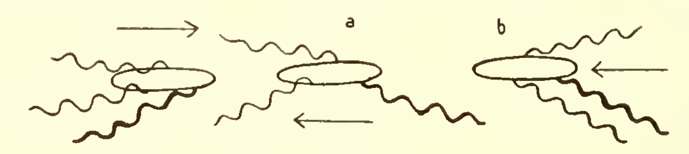


Fig. 53.

hinten gerichtet und entsprechen in ihrer Form rechtsläufigen Schrauben. Sie umfahren bei ihrem Schwingen Kegelmäntel. Ein einfaches Hinundherschlagen der Geißeln kommt auch hier nicht vor. Der Bazillenkörper vollführt sehr häufig mehr oder minder ausgesprochene Trichterbewegungen, die auf dieselbe Kräfteverteilung zurückzuführen sind wie bei den polarbegeißelten Formen. Die Umkehrung der Bewegung geschieht nun in der Weise, daß nach kurzem Stillstande derselben alle Geißelzöpfe gleichzeitig nach vorne gestellt werden oder nur ein einzelner dickerer, worauf die Bewegung wieder eintritt.

In Figur 53 ist dies kurz skizziert. Die von links nach rechts in Bewegung befindliche Zelle hat drei Geißelzöpfe, von denen der erste der stärkste ist. Bei der Umkehrung der Bewegungsrichtung legt sich nach kurzer, sozusagen momentaner Ruhepause entweder der stärkste Geißelzopf allein nach vorne und fängt sofort zu Schwingen an, so daß er allein die Rückbewegung besorgt, während die anderen Geißelzöpfe sich allmählich umstellen. Den Moment, wo nur der eine dickste Zopf nach vorne gestellt ist und die Bewegung im umgekehrten Sinne einsetzt, sehen wir in *a* der Figur 53. Wurden alle drei Zöpfe gleichzeitig umgestellt, haben wir die der Figur 53*b* entsprechende Erscheinung.

Bei den begeißelten Kugelbakterien sehen wir die gleichen Bewegungserscheinungen.

Von den durch eine Geißeltätigkeit hervorgebrachten Bewegungen wesentlich verschieden ist die Fortbewegung der Fäden von gewissen Schwefelbakterien, die keine Geißel tragen. Ihre tieferen Ursachen kennt man noch nicht. Die Bewegung gleicht einem langsamen Hingleiten über die Unterlage unter Drehung des Körpers um die Längsachse, wobei noch eigenartige, sehr langsame Pendelbewegungen zu beobachten sind. Eine solche Bewegung ist nur dann möglich, wenn die Zellfäden irgendeinen Stützpunkt besitzen. Sie hat aber mit Schwimmbewegungen garnichts zu tun. Wir dürfen wohl annehmen, daß diese Oszillatorienbewegung ebenfalls durch Plasmakontraktionen ausgelöst wird, die sich auf die elastische Zellmembran dieser Bakterien übertragen.

Die **Bewegungsgeschwindigkeit** der Bakterien ist bei den einzelnen Arten verschieden und bei derselben Art abhängig von einer Reihe äußerer Einflüsse. Im allgemeinen begünstigen optimale Ernährungsbedingungen und Temperaturen die Geschwindigkeit. Angehäufte Stoffwechselprodukte, dann narkotische Substanzen und Gifte hemmen die Geißelbewegung vorübergehend oder dauernd durch Zerstörung der Geißeln oder Zellen. Das gleiche gilt für höhere oder tiefere Temperaturen. Schon Erwärmungen auf wenige Grade über das Wachstumstemperaturoptimum der betreffenden Bakterienart genügen, die Bewegung einzustellen. Die Geißeln verfallen dabei in den Zustand der „Wärmestarre“, aus dem sie sich nach Wiedereinbringen in günstige Temperaturverhältnisse alsbald erholen.

Nach den Untersuchungen von Zopf am Bacillus vernicosus liegen die Maximaltemperaturen für Wachstum und Bewegung anders. Hier wird beispielsweise das Wachstum bei 45—46° C bereits eingestellt, während die Bewegungen erst bei 50° C sistiert werden. Wir sehen also, daß in dieser Hinsicht bei den Bakterien große Verschiedenheiten herrschen, weshalb sich ein allgemein gültiges Gesetz nicht herausfinden läßt.

Ganz tiefe Temperaturen führen zur Geißelstarre, die man in diesem Falle als „Kältestarre“ bezeichnet. Auch sie geht beim Wiedererwärmen zurück.

Nach den Untersuchungen von Lehmann und Fried ist die Geschwindigkeit der Bakterienbewegung sehr groß, da in der Sekunde unter günstigen Bedingungen eine Strecke von der 3—10fachen Körperlänge zurückgelegt wird. Nach den von den oben genannten Autoren vorgenommenen Messungen können für die Größe der Bakterienbewegung in der Sekunde folgende Mittelzahlen gelten:

Bacillus megatherium	7,5 μ
Bacillus subtilis	10,0 „
Bacillus tetani	11,0 „
Bacillus vulgaris	14,0 „
Bacillus typhi	18,0 „
Microspira Comma (Cholera vibrio) . .	30,0 „

Ein Zusammenhang zwischen Geschwindigkeitsgröße, Art der Begeißelung und Anzahl der Geißeln läßt sich kaum herausfinden.

Im Anschluß an die Besprechung der Bakterienbewegung sollen hier diejenigen chemischen und physikalischen Einflüsse genauer behandelt werden, die auf die Bewegung richtungsgebend einwirken. Es kann sich hier natürlich nur um einseitige Reizwirkungen handeln, auf die Bakterien durch Ausführung bestimmt gerichteter Bewegungen antworten. Man bezeichnet solche Ortveränderungen der Bakterien ganz allgemein als „Taxis" und näher durch Hinzusetzen der Bezeichnung des Reizes. Findet eine Bewegung zur Reizquelle statt, dann spricht man von positiver Taxis, im umgekehrten Falle von negativer Taxis.

Ganz allgemein nennt man die auf chemische einseitige Reize hin ausgelösten und gerichteten Bakterienbewegungen

Chemotaxis.

Es wirken nun verschiedene gelöste Stoffe chemotaktisch. Nach den grundlegenden Untersuchungen Pfeffers verhalten sich die einzelnen Bakterienarten diesen Lösungen gegenüber sehr verschieden. Reine chemotaktische Wirkungen erhalten wir durch Salzlösungen, die an und für sich keine Nahrung für die Bakterien darstellen. In ihnen wirkt vornehmlich der elektropositive Bestandteil, während die Säure eine mehr nebensächliche Rolle spielt. Besonders anziehend auf Bakterien wirken unter den Alkalien das Kalium, weniger das Natrium. Auch zahlreiche Nährstoffe wirken chemotaktisch auf die Bakterien, wie vorzugsweise Lösungen von Pepton und Fleischextrakt. Es ist hier aber keine reine Chemotaxis mehr, sondern vielmehr ein Trophotropismus, ausgelöst durch den Ernährungsreiz. Sehr schön gelingen die chemotaktischen Versuche nach Pfeffer mit feinen, an einem Ende verschmolzenen kurzen Kapillaren ($\frac{1}{2}$—1 cm) die man etwa zur Hälfte mit der auf chemotaktische Eigenschaften zu prüfenden Lösung fällt und mit dem offenen Ende dann in ein Tröpfchen mit gut beweglichen Bakterien einschiebt. Der Tropfen soll soviel Bakterienmaterial aufweisen, daß er eben leicht getrübt erscheint. In Figur 54 ist die Versuchsanordnung wiedergegeben.

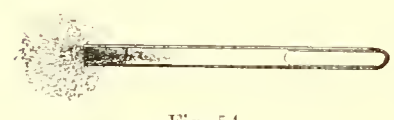


Fig. 54.

Hier ist in das Röhrchen eine 3proz. Peptonlösung eingefüllt, Als Bakterienmaterial dienten gut bewegliche Wasserbakterien. Schon nach einigen Sekunden sammeln sich dieselben an der Öffnung der Kapillare und stürzen mit großer Geschwindigkeit in dieselbe hinein. Soweit der Diffusionsstrom der Kapillare in den Tropfen reicht, schwimmen die Bakterien von allen Seiten hinzu. Ähnliches erhält man mit 5proz. Fleischextraktlösungen. Lösungen von Asparagin, schwachen Chlorkaliumlösungen usw. Die einzelnen Bakterienarten verhalten sich diesen Stoffen gegenüber aber sehr verschieden. Sehr wenig empfindlich sind im allgemeinen die Bakterien gegenüber Kohlehydratlösungen. Bakterium termo wird nach Pfeffer von Dextrinlösungen angezogen, nicht aber das Spirillum Undula. Glyzerin wirkt chemotaktisch gar nicht. Wir haben bisher nur von Anziehung, also positiver Chemotaxis, der Bakterien durch eine Reihe von Stoffen gehört. Viele Lösungen wirken aber abstoßend auf die Bakterien, lösen also eine negative Chemotaxis aus. Freie Säuren, Alkalien und Alkohol werden von allen Bakterien ge-

flohen. In einer Verbindung kann nun das Metall + Chemotaxis, die Säure dagegen — Chemotaxis auslösen. In diesem Falle nehmen die Bakterien eine Mittelstellung ein, werden also in einer bestimmten Zone festgehalten. Die Reizwirkungen haben bei der reinen Chemotaxis mit dem Nährwert der betreffenden Verbindung nichts zu tun, da auch nicht nur nicht ernährende, sondern sogar giftige Stoffe positive Chemotaxis auszulösen imstande sind, wie beispielsweise Äther. Wir dürfen also in diesen Reaktionen der Organismen auf chemische Reize durchaus nicht zweckmäßige Einrichtungen erblicken, die für das Gedeihen der Zelle einen besonderen Wert haben müssen.

Bei der Chemotaxis dürfen wir auch auf die osmotische Wirksamkeit der gelösten Verbindungen nicht vergessen. Das gilt natürlich nur für die beweglichen und plasmolysierbaren Bakterienarten. Hier kann durch die Änderung der äußeren osmotischen Druckverhältnisse ebenfalls eine besondere Einstellung und Richtung der Bakterienbewegung ausgelöst werden. Wir sprechen dann von Osmotaxis. In vielen Fällen wird Chemotaxis und Osmotaxis zusammenwirken.

Nach einiger Zeit, sobald die chemotaktisch wirksame Flüssigkeit durch die Diffusion sich im Bakterientropfen gleichmäßig verteilt hat, hören die Ansammlungen wieder auf. Wollen wir im selben Tropfen mit den gleichen Bakterien neuerdings einen positiven chemotaktischen Versuch anstellen, müssen wir bedeutend konzentrierten Lösungen in die Kapillaren einfüllen. Die Steigerung der Konzentration zur Auslösung einer starken Wirkung muß 10—20 mal sein. Wenn also die Bakterien in einer 0,5 proz. Peptonlösung liegen, müssen wir sie zur Auslösung einer starken Chemotaxis mit einer mindestens 5 proz. Peptonlösung reizen.

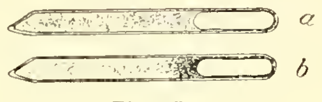


Fig. 55.

Freier Sauerstoff wirkt auch chemotaktisch auf Bakterien ein. Man hat die durch den Sauerstoff bewirkte Bewegungsrichtung der Bakterien auch „Aerotaxis" genannt. Die verschiedenen Bakterienarten verhalten sich gegen den Luftsauerstoff außerordentlich verschieden. Einige können ohne ihn nicht leben, andere bedürfen seiner nur in mehr oder minder kleinen Mengen und wieder andere können nur ohne ihn vegetieren. Wenn wir nun ein Tröpfchen mit sauerstoffliebenden, gut beweglichen Bakterien in eine Kapillare so füllen, daß noch eine Luftblase in derselben zurückbleibt und schließlich beide Ende abschmelzen, so wandern nach kurzer Zeit alle beweglichen Bakterien zur Luftblase hin und drängen sich dort zu einem dichten Pfropf zusammen. In Figur 55 ist die Versuchsanordnung wiedergegeben. In *a* sehen wir das eben gefüllte und abgeschmolzene Kapillarrohr. Die Bakterien sind in der Flüssigkeit noch gleichmäßig verteilt. Nach etwa einer halben Stunde ist bereits die Mehrzahl derselben zur Luftblase gewandert, wie es *b* dieser Figur zeigt.

Die beweglichen Bakterien suchen nun auch denjenigen Ort in der Flüssigkeit auf, der ihnen die zusagendste Sauerstoffspannung bietet. Beijerinck hat diese Erscheinungen eingehend studiert und ist dabei zu seinen Atmungsfiguren gekommen. Er brachte auf große Objektträger Tropfen gut beweglicher verschieden Sauerstoff bedürftiger Bakterien. Diese Tropfen wurden mit einem großen, runden Deckglase bedeckt, das an

einer Stelle nahe am Rande von einem Stückchen Platindraht untersützt war. In Figur 56 ist die Versuchsanordnung im Schnitt wiedergegeben. *O* bedeutet den Objektträger, *P* den Platindraht, *D* das Deckgläschen und *F* den in Keilform ausgebreiteten bakterienhaltigen Tropfen. Bei dieser Zusammenstellung haben die einzelnen Zonen des unter dem Deckglase befindlichen Flüssigkeitskeiles sehr verschiedenen Sauerstoffgehalt. Die Bakterien wandern in diesem Falle in jene Teile dieses Keiles, die die optimale Sauerstoffspannung aufweisen. Es zeigten sich im allgemeinen drei verschiedene Ansammlungsformen der Bakterien, die Beijerinck als Atmungsfiguren bezeichnet. In Figur 57 sind dieselben in annähernd natürlicher Größe nach dem genannten Untersucher abgebildet. In *1* dieser Figur sehen wir die Ansammlung von sehr sauerstoffliebenden beweglichen Bakterien. Dieselben streben dem äußersten Rande des Flüssigkeitskeiles zu, der unmittelbar an die Luft grenzt. Die beste Durchlüftung bietet die Basis des Flüssigkeitskeiles, wo sich auch die stärkste Ansammlung zeigt (*S*). Dann folgt eine bakterienfreie Zone (*Bf*), während das Innere des Keiles nur die schlecht und garnicht beweglichen Bakterien beherbergt. Anders ist das Bild der Ansammlung von beweglichen Bakterien, die eine geringere Sauerstoffspannung bevorzugen. Sie ziehen sich in einer Zone zusammen, die etwas vom Rande entfernt liegt, wie es *2* in *s* zeigt. Der übrige Teil der Flüssigkeit enthält nur die unbeweglichen Bakterien. Die den Sauerstoff fliehenden Bakterien sammeln sich in dem Bezirke mit dem geringsten Sauerstoffgehalte an, wie es *3* bei *Sf* aufweist.

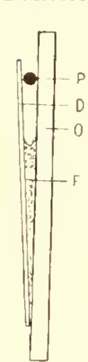


Fig. 56.

Auch eine Reihe physikalischer Reize wirkt richtungsgebend auf Bakterien ein, so daß dadurch gewisse Taxien ausgelöst werden. Auch die schon von Engelmann beobachteten Schreckbewegungen der Bakterien beim Wechsel der Lichtintensität, sind auf einen Lichtreiz

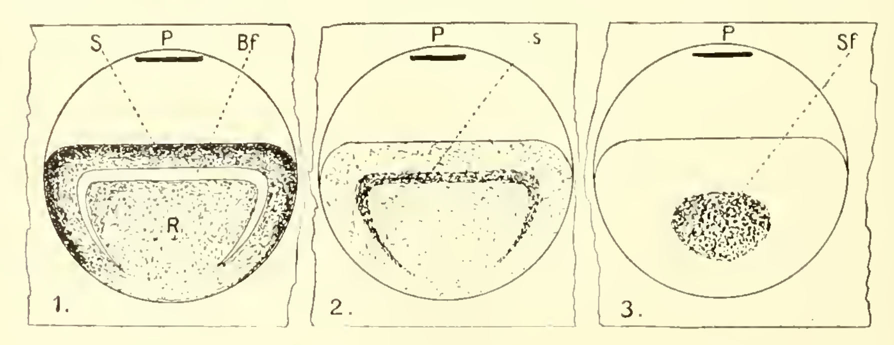


Fig. 57.

zurückzuführen. Dabei werden die Bakterien durch die beleuchtete Stelle, besser gesagt durch den Lichtreiz, nicht etwa angezogen, so daß sie alle dem stärker beleuchteten Bezirk zustreben, sondern, wenn sie bei ihrer freien Bewegung in die besser beleuchteten Teile der Flüssigkeit gelangen, an dem Wiederaustritt gehindert. Wie sie bei der Bewegung in der hellen Zone zufällig an die dunkle kommen, so schrecken sie zurück und verbleiben in dem stärker belichteten Teile. Sie sind wie in einer Falle, in die sie

leicht hineingehen aber nicht mehr herauskommen (Lichtfalle). Es ist dies eine Art Phototaxis. Nach Pfeffer handelt es sich dabei eigentlich um eine Phobotaxis, bei der die Ansammlung der Bakterien in einem bestimmten Bezirk dadurch erreicht wird, daß die Bakterien ungehindert in das Gebiet des Reizes gelangen, aber daraus nicht mehr wegschwimmen können. Im tieferen Grunde scheinen nach den Untersuchungen Rotherts die meisten taktischen Bakterienansammlungen phobotaktischer Natur zu sein. Unter anderen läßt sich die oben genannte Lichtfalle mit Rhodospirillum photometricum, einer Purpurbakterie, sehr schön demonstrieren, wie es auch Molisch dargetan hat. Figur 58 zeigt uns die Wiedergabe eines solchen Versuches. Ein hohlgeschliffener Objektträger wird mit einer dichten Aufschwemmung von Rhodospirillum photometricum beschickt, dann mit einem Deckgläschen luftblasenfrei bedeckt, so daß die Höhlung des Objektträgers vollkommen mit der Bakterienaufschwemmung ausgefüllt ist. Der Rand des Deckgläschens wird mit Terpentin luftdicht am Objektträger festgeklebt. Auf das Deckgläschen kommt nun eine schwarze Maske, z. B. ein schwarzes, undurchsichtiges Papierkreuz, wie es *a* der Figur 58 zeigt.

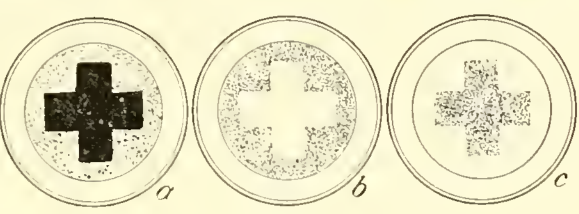


Fig. 58.

Nun wird die Versuchsordnung dem diffusen Tageslichte oder dem Lichte eines Auerbrenners ausgesetzt. Entfernt man nun nach ca. ½ stündiger Belichtung das schwarze Kreuz, so bemerkt man eine vollständige Wiedergabe desselben als glasklare Stelle, wie es *b* der Figur 58 zeigt. Alle Bakterien sind in den belichteten Teil der Flüssigkeit gegangen und wurden dort festgehalten. Deshalb erscheint der nicht bedeckte Teil der Flüssigkeit sehr dicht getrübt. Die Erscheinung dauert aber nur wenige Minuten. Dann stürzen alle Bakterien in das Kreuz hinein und sammeln sich dort an, so daß eine Umkehrung des Phänomens eintritt, wie es aus *c* der Figur 58 ersichtlich ist. Diese Erscheinung dürfte in einer Chemotaxis ihre Ursache haben, wie Molisch richtig schließt. Außen ist durch Bakterien der Nährboden stark verbraucht worden, während er im bakterienfreien Teil erhalten blieb. Sobald dieser Teil wieder belichtet ist, gehen die Bakterien alsbald hinein.

Auch Wärme scheint eine positive Thermotaxis in dem Sinne auszulösen, daß gewisse Bakterien, wie z. B. der Bacillus prodigiosus, dem stärker erwärmten Teile des hängenden Tropfens zustreben, wie Schenck mitteilt.

Auch die Schwerkraft, soll teils positive, teils negative Geotaxis veranlassen, was Massart für einige marine Spirillenarten dargetan hat.

Über die durch elektrische Ströme verursachte Galvanotaxis der Bakterien liegen mehrere Beobachtungen vor. Darnach sollen sich gut bewegliche, jugendliche Bakterien parallel zur Richtung von Induktionsströmen einstellen, die das flüssige Nährsubstrat durchfließen.

Über die feineren Vorgänge bei der Auslösung dieser Reize und über die Lokalisation der Reizwirkungen ist uns zurzeit nichts bekannt. Vielleicht wirken die genannten Reize überhaupt nur auf die Geißeln allein, ohne in das Zellinnere zu gelangen und beeinflussen so die Stellung und Tätigkeit derselben. Übrigens scheinen für die verschiedenen Reize auch sehr verschiedene Reizschwellen vorhanden zu sein. Außerdem bleibt die Reizmöglichkeit für einzelne Reize erhalten, während sie für andere unterdrückt ist.

Literatur zur Vorlesung X.

Physikalische Eigenschaften der Bakterienzelle.

Spezifisches Gewicht:

Almquist, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 1, S. 72, 1882.
Stigell, Zentralbl. f. Bakt, I. Abt., Orig., Bd. 45, S. 487.

Lichtbrechungsvermögen.

Fischer, A., Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 35, S. 37, 1900.
Amann, Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 13, S. 775, 1893.

Osmose.

De Vries, Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 14, Bd. 16.
Pfeffer, Pflanzenphysiologie, Bd. 1, 1897.
Ostwald, Allgemeine Chemie, Bd. 1, 1891.

Plasmolyse.

Fischer, A., Vorlesung über Bakterien, S. 22 ff., Jena 1903.

Bewegung der Bakterien.

Reichert, Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 51, S. 14, 1909.
Zopf, W., Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen, Bd. 1, Leipzig 1892.
Lehmann u. Fried, Archiv f. Hygiene, Bd. 47, S. 311, 1903.

Taxien.

Pfeffer, W., Berichte d. deutsch. bot. Gesellsch., Bd. 1, S. 524, 1883.
Ders., Arbeiten d. botan. Inst. Tübingen, Bd. 1, 1884, Bd. 2, 1888.
Beijerinck, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 9, S. 546, 1902.
Engelmann, Pflügers Archiv, Bd. 30, S. 95, 1883.
Molisch, Die Purpurbakterien, 1907.
Schenk, L. S., Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 14, S. 37, 1893.
Verworn, M., Pflügers Archiv, Bd. 46, S. 290, 1889.
Massart, Bull de l'Acad. Roy. de Belge, Bd. 22, Ser. 3, S. 158, 1891.
Lortet, L., Compt. rend. de l'Acad. Paris, Bd. 122, S. 892, 1896.
Behrens, J., Beeinflussung der Ortsveränderungen durch äußere Einwirkungen. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 474. Dort noch zahlreiche Literatur.

ELFTE VORLESUNG.

Nahrungsstoffe und Nahrung der Bakterien.

Da wir das Leben und Wachstum als einen ständigen Zerfall und Aufbau der lebenden Substanz aufzufassen haben, müssen immer hinreichend diejenigen Baustoffe und Energien den Mikroorganismen zur Verfügung stehen, aus denen die Erneuerung des Protoplasmas im weitesten Sinne des Wortes möglich ist.

Wir können neben einer Reihe Aschebestandteilen ganz allgemein die Elemente Stickstoff, Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff als unerläßliche Baustoffe ansehen. Von den Aschenbestandteilen sind neben weniger wichtigen besonders Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kalium und Magnesium und Eisen als in den meisten Fällen unbedingt notwendige Nahrungsbestandteile zu betrachten. Über die Vertretbarkeit der letztgenannten Elemente durch andere in der Nahrung der Bakterien liegen nur wenige einwandfreie Untersuchungen vor. Das wird begreiflich, wenn wir bedenken, daß diesen kleinsten Lebewesen die geringsten Spuren von Stoffen, die sich als kaum auszuschließende Verunreinigungen jederzeit finden, zum Wachstum genügen. Wählerisch erweisen sich nun die Bakterien für die Art der Darreichung dieser Elemente in Verbindungen.

Wenn wir kurz die **Stickstoffquellen** betrachten, die den Bakterien zur Verfügung stehen, so kommen wir zum Schlusse, daß dieselben aus den verschiedensten mehr oder minder komplexen Stickstoffverbindungen und mit elementarem Stickstoff ihren Bedarf daran decken können. Die anspruchsvollsten Bakterien können als Stickstoffquelle nur Eiweißkörper ausnutzen. Unter ihnen finden wir die im Tierkörper parasitär lebenden Bakterien, mit denen sich besonders die Medizin zu befassen hat. Wir können sie mit A. Fischer als paratrophe Bakterien zusammenfassen. Wieder andere Bakterien können als Stickstoffquelle außer den Eiweißkörpern noch Abbauprodukte derselben und einfachere Amidverbindungen gebrauchen. Sie decken ihren Bedarf also vorwiegend aus organischer Nahrung, vermögen aber auch gelegentlich als Parasiten aufzutreten. Wir fassen sie mit Fischer in der biologischen Gruppe der metatrophen Bakterien zusammen. Die Fäulnisbakterien oder Saprophyten und de Barys Hemiparasiten gehören auch hierher. Eine dritte Gruppe von Bakterien deckt ihren Gesamtnahrungsbedarf, also auch den Stickstoffbedarf, aus unorganisierten Stoffen oder wenigstens

letzteren bei Dareichung einer organischen Kohlenstoffquelle in geringster Menge. Sie umfaßt die prototrophen Bakterien im Sinne A. Fischers.

In bezug auf die den Bakterien eben noch zugänglichen Stickstoffquellen können wir erstere in 7 große Gruppen einteilen, die Alfred Fischer auf Grund eigener Untersuchungen und nach Befunden anderer Autoren zusammengestellt hat.

1. Gruppe: **Paratrophe Bakterien.**

Sie umfaßt, wie schon angedeutet, jene Mikroben, die ihren Stickstoffbedarf nur aus Eiweißverbindung zu decken vermögen, wenn ihnen dieselben mit allen anderen Stoffen in demselben Mischungsverhältnis zur Verfügung stehen, wie sie der Wirtskörper enthält. Die hier untergebrachten krankheitserregenden Bakterien sind daher außerhalb des Tierkörpers nur züchtbar auf Blutserum und anderen Körpersubstanzen in natürlicher Zusammensetzung.

2. Gruppe: **Peptonbakterien.**

Ihnen muß der Stickstoff in organischer Bindung dargereicht werden, wie in komplexen Polypeptidverbindungen, die man bisher als Peptone (Albumosen) bezeichnete.

3. Gruppe: **Amidbakterien.**

Sie vermögen den Stickstoffbedarf bei optimalem Wachstum aus Monoaminosäuren (Leuzin usw.), Monoaminokarbonsäuren (Asparaginsäure usw.), Diaminosäuren zu decken, nicht aber aus Ammoniak.

4. Gruppe: **Ammonbakterien.**

Ihnen ist der Ammoniakstickstoff noch zur Deckung des Stickstoffbedarfes ausreichend. Sie vermögen aber auch als Stickstoffnahrung die in der Gruppe 3 genannten Verbindungen zu gebrauchen.

5. Gruppe: **Nitrobakterien.**

Sie können den zur Nahrung notwendigen Stickstoff auch salpetersauren Salzen entnehmen, wobei eine Reduktion der Salpetersäure eintritt, die bis zur Abspaltung von freiem Stickstoff führen kann. Für die Zugänglichkeit dieser Stickstoffquelle ist aber die gleichzeitige Anwesenheit einer besonderen organischen Kohlenstoffquelle unerläßlich.

6. Gruppe: **Nitrit- und Nitratbakterien.**

Für sie kommt ausschließlich Ammoniak bzw. oxydierter Stickstoff (salpetrige Säure) als Stickstoffquelle in Frage. Dabei dient als ausschließliche Kohlenstoffquelle die Kohlensäure der Luft.

7. Gruppe: **Nitrogenbakterien.**

Ihnen kann als Stickstoffquelle der elementare Stickstoff der Luft dienen, wenn zugleich eine organische Kohlenstoffverbindung zur Verfügung steht.

Aus dieser Einteilung ist die Vielseitigkeit der Ansprüche der Mikroorganismen in bezug auf die Stickstoffnahrung klar ersichtlich.

Nicht minder zahlreich sind die

Kohlenstoffquellen,

die den Bakterien zur Verfügung stehen, die aber für die einzelnen Arten wieder sehr verschieden ausnutzbar sind. Die organischen Stickstoff-

quellen enthalten schon Kohlenstoff und in vielen Fällen reicht dieser hier, den Kohlenstoff der Bakterien zu decken. Für die Mehrzahl der Bakterien ist aber zu optimaler Vermehrung eine besondere Kohlenstoffquelle unerläßlich. Dieselbe kann entweder anorganischer Natur sein, wie freie Kohlensäure oder auch kohlensaure Salze, allerdings in sehr beschränktem Maße, oder organischer Natur. Die organischen Kohlenstoffverbindungen werden von den meisten Bakterien bevorzugt. Welche organischen Kohlenstoffverbindungen nun die beste Kohlenstoffquelle abgeben, kann allgemein nicht bestimmt werden. Sehr häufig ist Dextrose und Glyzerin am brauchbarsten. Man hat versucht, eine Nährwertskala für diese Stoffe aufzustellen, die aber selbstverständlich nur für eine sehr beschränkte Anzahl von Bakterien gelten kann, da in dieser Hinsicht die einzelnen Bakterienarten große Unterschiede aufweisen. Omeliansky und Winogradsky geben eine solche Nährwertskala, in der entsprechend der Größe des Nährwertes die Verbindungen aufgezählt sind.

An erster Stelle steht Pepton, dann folgt Glykose, Asparagin, Glyzerin, Harnstoff, Essigsäure und endlich Buttersäure. Auch eine Reihe organischer Säuren ist nach Maassen für Bakterien eine gute Kohlenstoffquelle. Solche Verbindungen sind Apfelsäure, Zitronsäure Fumarsäure, Glyzerinsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure und Weinsäure. Daneben finden wir noch eine Anzahl organischer Säuren, die ebenfalls in einzelnen Fällen gute Kohlenstoffquellen für bestimmte Bakterienarten abgeben, in der Regel aber unbrauchbar sind, wie beispielsweise Oxalsäure.

Die mehrwertigen Alkohole ergeben meistens bei ihrer enzymatischen Spaltung Produkte, die leicht zugängliche Kohlenstoffquellen für die Mikroben sind.

Äthylalkohol spielt als Kohlenstoffquelle besonders bei den Essigbakterien eine hervorragende Rolle. Er ist aber für sie keineswegs die einzige Kohlenstoffquelle. Im übrigen verhalten sich die Bakterien den Kohlenstoffquellen gegenüber sehr wählerisch, sofern mehrere zugängliche gleichzeitig vorliegen. Die Aufschließung derselben geschieht meist durch besondere Enzyme, wie schon früher dargetan wurde. Es herrscht gewiß eine Gesetzmäßigkeit in bezug auf die Brauchbarkeit als Kohlenstoffquelle und der sterischen Konfiguration der Verbindung. Wir sind aber noch weit entfernt, in dieser Hinsicht klar zu sehen, da alle Regelmäßigkeit durch fast ebenso zahlreiche Ausnahmen durchbrochen wird. Für viele Bakterien hat es wenigstens den Anschein, als wären alle jene Kohlenstoffverbindungen für sie unbrauchbar, in denen eine unmittelbare Bindung des Sauerstoffes oder Stickstoffes mit dem Kohlenstoffatom vorliegt, wie beispielsweise in der Oxalsäure, im Cyan oder im Harnstoff. Wir haben aber schon früher Ausnahmen in bezug auf die Oxalsäure und den Harnstoff kurz kennen gelernt. Im allgemeinen kann für die meisten Fälle diese Annahme allerdings gelten. Dieselbe Berechtigung hat auch die Anschauung, daß gerade diejenigen Kohlenstoffverbindungen die geeignetsten sind, deren Kohlenstoffatom unmittelbar mit Wasserstoff gebunden ist.

Stehen einer Bakterienart

razemische Verbindungen

als besondere Kohlenstoff-, bzw. Stickstoffquellen oder als kombinierte Kohlen-Stickstoffquellen zur Verfügung, so wird in vielen Fällen nur

der eine aktive Paarling den Bedarf an Kohlenstoff bzw. Stickstoff zu decken vermögen, während der andere ganz oder wenigstens zum größten Teil erhalten bleibt. Dabei ist aber zu berücksichtigen, ob tatsächlich in dem Maß eine Aufzehrung erfolgt, als zum Stoffhaushalt der Zelle notwendig ist, oder ob eine Spaltung des einen Paarlings in andere, weiter nicht verwertbare Verbindungen durchgeführt wird, die mit der Ernährung nichts zu tun haben.

Sauerstoff kann den Mikroorganismen in freiem Zustande und gebunden in den verschiedensten Verbindungen zur Verfügung stehen. Darnach sind die

Sauerstoffquellen

verschiedener Natur. Allen Mikroorganismen ist natürlich der Sauerstoff des Wassers jederzeit zugänglich, da ein Leben derselben ohne Wasser überhaupt nicht möglich ist. Ob letzteres aber als Sauerstoffquelle für die Bakterien auch ausnützbar ist, ist eine Frage, die bis jetzt experimentell nicht beantwortet wurde, noch leicht zu beantworten sein wird, da neben dem Wasser immer noch eine Reihe von sauerstoffhältigen organischen und anorganischen Verbindungen in den Nährsubstraten vorhanden sind. Die wichtigste Rolle für die Ernährung spielt wohl der Sauerstoff der Luft, dem gegenüber sich die einzelnen Bakterienarten sehr verschieden verhalten. Einiges davon haben wir schon bei der Besprechung der Aerotaxis in der vorigen Vorlesung gehört. Die verschiedenen Untersuchungen haben nun ergeben, daß ganz allgemein für den Sauerstoffbedarf drei Kardinalpunkte aufgefunden werden können. Es sind jene Sauerstoffspannungen, bei denen sich der betreffende Organismus entweder am besten vermehrt und seinen ganzen Entwicklungskreis durchmacht, das Sauerstoffoptimum, oder jene niederen Konzentrationen, bei denen eine Vermehrung überhaupt noch möglich ist, die Sauerstoffminima, oder endlich jene größten Sauerstoffmengen, die noch eine Entwicklung zulassen oder bei denen dieselbe eben gehindert wird, die Sauerstoffmaxima.

Da herrschen insofern noch Besonderheiten, als bei den sporenbildenden Bakterien diese Kardinalpunkte für die Sporenbildung andere sind, als für die Sporenkeimung und die Zellvermehrung. Ja selbst die beiden letztgenannten Vorgänge weisen kleinere Unterschiede in diesen Kardinalpunkten auf, welche im allgemeinen darin bestehen, daß der Keimungsprozeß der am wenigsten vom Sauerstoffdruck beeinflußte Vorgang ist, wie aus den Untersuchungen A. Meyers und seiner Schüler unter anderem hervorgeht. Der genannte Forscher bezeichnet nun diejenigen Sauerstoffspannungen, die zwischen den beiden Kardinalpunkten „Maximum“ und „Minimum“ einer Bakterienart liegen, als „Latitude“ in bezug auf die Sauerstofftoleranz, die dann noch näher zu bezeichnen ist, wie beispielsweise für die Sporenbildung oder Sporenkeimung usw.

Wir kennen nach den Untersuchungen Arthur Meyers und anderer die Sauerstoffdrucke, gegeben in Liter-Milligrammen, für die Sporenbildung einer Anzahl von Bakterienarten, die in der folgenden kleinen Tabelle nach Untersuchungen A. Meyers und Bredemanns zusammengestellt sind.

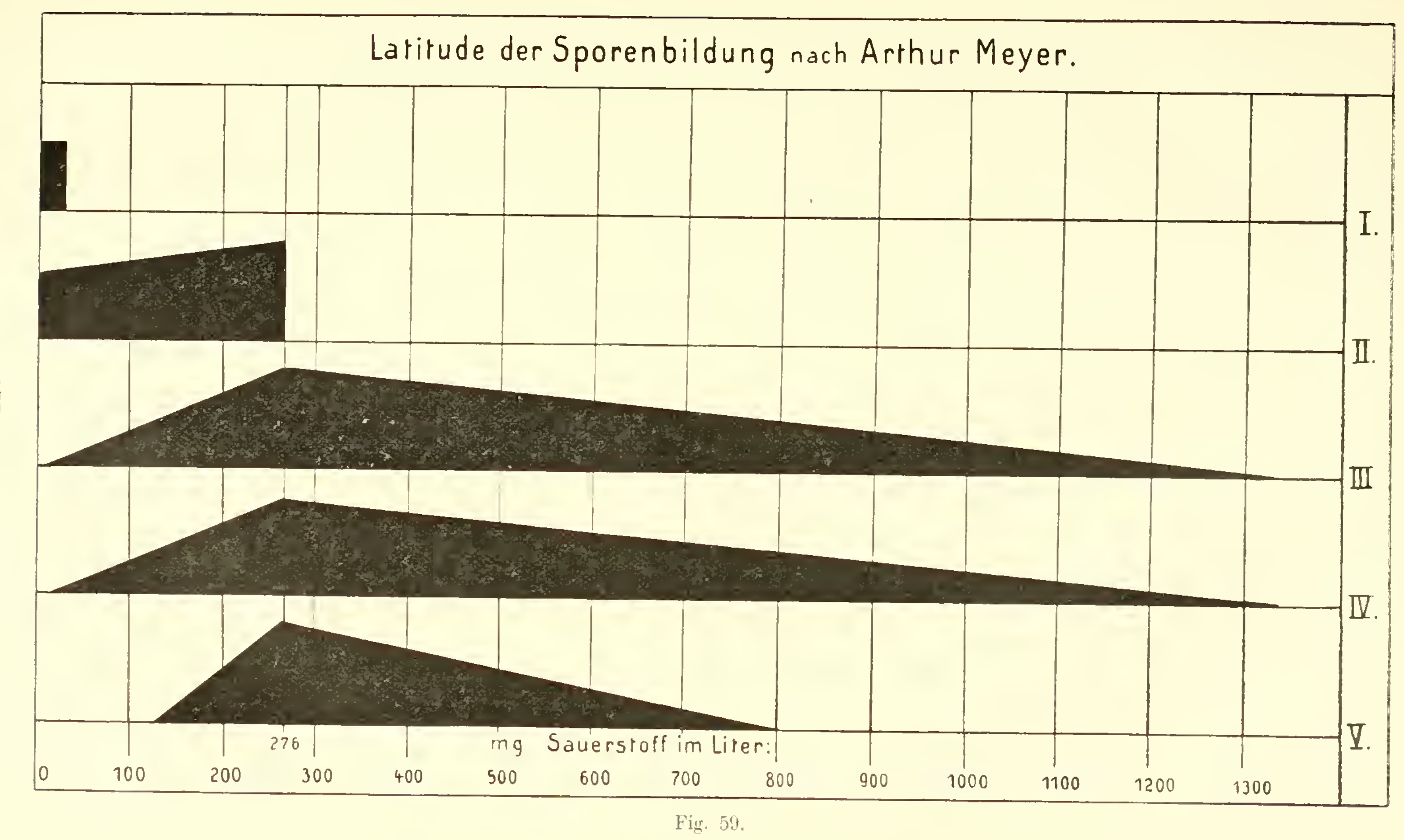
Kardinalpunkte für die Sporenbildung:
in mg Sauerstoff im Liter.

	Minimum	Optimum	Maximum
I. Bacillus amylobacter	fehlt	(25 mg?)	25 mg
II. Bacillus asterosporus	"	276 "	276 "
III. Bacillus mycoides	6,8 mg	276 "	1336 "
IV. Bacillus parvus	11,3 "	276 "	1336 "
V. Bacillus pumilus.	130 "	276 "	801 "

Versuchen wir, diese Verhältnisse graphisch darzustellen, so kommen wir zu Bildern, wie sie uns folgende Figur 59 zeigt. Dazu ist nur zu bemerken, daß die für die oben aufgeführten Bakterien gezeichneten Breiten für die Sporulation mit denselben römischen Ziffern rechts bezeichnet sind. Die Höhe für das Optimum ist in allen Fällen annähernd gleich und willkürlich gewählt. Wir wissen auch nicht, ob die Verlangsamung der Sporenbildung bis zur vollständigen Unterdrückung nach beiden Seiten in geraden Linien vom Optimum bis *o* verläuft. Außerdem ist das Optimum nicht durch einen höchsten Punkt in Wirklichkeit gegeben, sondern durch eine horizontale Strecke von verschiedener Länge; mit anderen Worten, das Optimum wird durch eine Reihe fallender bzw. steigenden Sauerstoffkonzentrationen gegeben, die aber in sehr engen Grenzen ligen. Arthur Meyer bezeichnet dieselben als Bonalweite. Trotz dieser Vernachlässigungen gibt uns die graphische Darstellung dennoch ein deutlicheres Bild der Verhältnisse als die obigen Zahlen allein. Wir ersehen daraus, daß der Bacillus amylobacter (I) nur innerhalb einer sehr geringen Sauerstoffspannung seinen ganzen Entwicklungskreis zu durchlaufen, also auch seine Sporen zu erzeugen vermag. Ein Sauerstoffminimum dafür gibt es nicht, da er auch ohne **jede Spur Sauerstoff** seine beweglichen Oidien bildet und sporuliert. Eine weitere Sporulationsbreite besitzt der Bacillus asterosporus (II), der allerdings für die Sporulation auch kein Sauerstoffminimum besitzt, sein Optimum dafür aber bei 276 mg Sauerstoff hat, wo auch gleichzeitig das Maximum liegt. Diese Konzentration entspricht derjenigen des Sauerstoffes der atmosphärischen Luft bei 760 mm Quecksilberdruck und 18° C. Die drei übrigen Bakterienarten Bacillus mycoides (III), Bacillus parvus (IV) und endlich Bacillus pumilus (V), haben Minima der O-Konzentration für die Sporenbildung. Die Optima liegen in jedem Fall bei der Sauerstoffkonzentration der atmosphärischen Luft (276 mg), während die Maxima mehr oder weniger weit hinausgeschoben sind.

Aus diesen Befunden geht hervor, daß die untersuchten Bakterienarten einen außerordentlich verschiedenen Sauerstoffgehalt der Atmosphäre im Züchtungsraum verlangen, bzw. vertragen, wenn sie ihren gesamten Entwicklungskreis durchlaufen sollen. Es gelten diese Zahlen für Kulturen, die auf Traubenzuckernähragar bei 20° C gezogen wurden.

Wesentlich anders sehen die Sauerstoffweiten für die Keimung und für das Wachstum aus. Hier werden im allgemeinen viel größere bzw. auch kleinere Sauerstoffkonzentrationen ertragen, sofern dazu Sauerstoff überhaupt notwendig ist. Wir werden dementsprechend auch andere Kardinalpunkte erhalten. Folgende Zahlen nach Arthur Meyer gelten für diese Verhältnisse:



Latitude der Sporenbildung nach Arthur Meyer.
I.
II.
III.
IV.
V.
276
mg Sauerstoff im Liter:
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300

Fig. 59.

Kardinalpunkte für die Sporenkeimung (auch annähernd für das Wachstum).

Sauerstoff im Liter

	Minimum	Optimum	Maximum
I. Bacillus amylobacter	fehlt	—	ca 25 mg
II. Bacillus asterosporus	„	100 mg	5600 „
III. Bacillus mycoides	4,3 mg	276 „	1336 „
IV. Bacillus parvus	3 „	276 „	5687 „
V. Bacillus pumilus.	6,8 „	400 „	1336 „

Konstruieren wir nach den früheren Gesichtspunkten mit diesen Zahlen wieder eine graphische Darstellung dieser Verhältnisse, so erhalten wir wesentlich weitere Breiten für die Sporenkeimung bzw. das Wachstum bei verschiedenen Sauerstoffmengen. In Figur 60 ist diese Konstruktion wiedergegeben. Die voll schwarz angelegten Flächen entsprechen den Verhältnissen bei der Sporenkeimung (und annähernd bei dem Wachstum), während die punktierten darüber liegenden Felder diejenigen der Figur 59 in entsprechender Verkleinerung sind. Für den Bacillus amylobacter (I) haben sich die Verhältnisse nicht geändert, daher sind die übereinanderliegenden Wachstums- und Sporenbildungsfelder gleich geblieben. Wesentlich anders ist es beim Bacillus asterosporus (II), dessen Latitude für die Sporenkeimung und für das Wachstum zwischen vollständigem Sauerstoffmangel und einem Sauerstoffgehalt von 5600 mg im Liter liegt. Für die Sporenkeimung liegt das Optimum bei 100 mg, für die Sporenbildung bei 276 mg, also bei der Konzentration, die derjenigen in der atmosphärischen Luft entspricht. Die Oidien dieser Bakterienart verlangen also zum besten Wachstum und zur Entfaltung aller ihrer umsetzenden Lebenstätigkeiten einen geringeren Sauerstoffgehalt der Atmosphäre, als zur optimalen Sporenbildung. Anderseits können sie aber noch bei sehr großen Sauerstoffmengen vegetieren und keimen, ohne aber Sporen zu bilden. Der Bacillus mycoides (III) erweist sich in bezug auf das Sauerstoffoptimum gleich wie die vorgenannte Art, dagegen viel empfindlicher in bezug auf hohe und niedere Sauerstoffdrucke. Ohne Spur Sauerstoff vermag er weder zu keimen noch zu vegetieren. Das Sauerstoffmaximum fällt mit demjenigen der Sporenbildung zusammen. Der Bacillus parvus (IV) verhält sich in bezug auf die Wachstumsbreite ungefähr so wie der Bacillus asterosporus. Er hat aber ein sehr niedrig liegendes Sauerstoffminimum und ein um 276 mg befindliches Sauerstoffoptimum. Das Optimum der Sporenbildung fällt also mit dem Optimum des Wachstums und der Sporenkeimung eben beim Sauerstoffgehalt der atmosphärischen Luft zusammen. Das Maximum liegt wieder bei sehr hohen Drucken. Die Wachstumsbreite des Bacillus pumilus (V) ist annähernd gleich derjenigen des Bacillus mycoides (III); wesentlich anders liegt aber das Wachstums- und Keimungsoptimum, das hier einer größeren Sauerstoffkonzentration (400 mg) entspricht, als der in der Atmosphäre herrschenden, während Bacillus mycoides sein Wachstumsoptimum bei 100 mg aufweist, also unter dem Sauerstoffgehalt der Luft. Die Wachstumsbreite ist übrigens beim Bacillus pumilus nach beiden Seiten bedeutend größer als seine Sporenbildungsbreite.

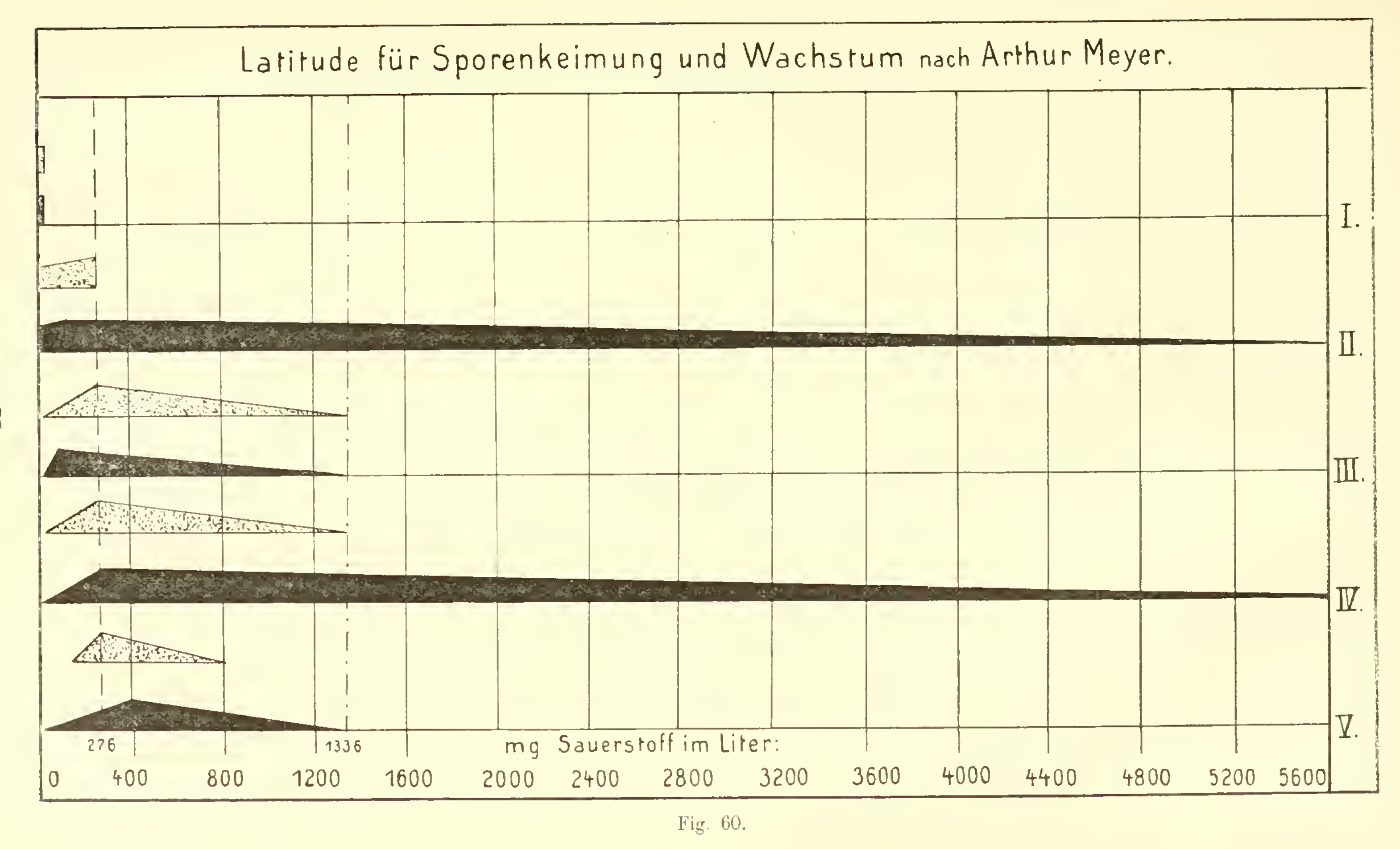

Latitude für Sporenkeimung und Wachstum nach Arthur Meyer.
I.
II.
III.
IV.
V.
276
1336
mg Sauerstoff im Liter:
0
400
800
1200
1600
2000
2400
2800
3200
3600
4000
4400
4800
5200
5600

Fig. 60.

Wir entnehmen aus allen diesen Befunden, daß beim Wachstum der Bakterien und auch bei ihrer Sporenkeimung der Sauerstoffgehalt sehr verschieden sein und in vielen Fällen außerordentlich große Schwankungen aufweisen kann, bis eine Hemmung des Lebens eintritt. Trotzdem werden immer gewisse Konzentrationen zur Ernährung sich als besonders günstig herausstellen. Dieselben entsprechen eben der Bonalweite des Sauerstoffbedarfes im Sinne A. Meyers. Aber nicht nur die genannten Sporenbildner weisen solche Kardinalpunkte für die Sauerstoffkonzentration auf, sondern auch alle anderen Bakterienarten, auf die aber nicht näher eingegangen zu werden braucht.

Mit Arthur Meyer können wir nach den bisherigen Befunden die Bakterien in bezug auf ihr Verhalten zu freiem Sauerstoff in zwei große Gruppen einteilen:

„I. Anaëroben: Solche Organismen, welche den Sauerstoff entbehren können.

A. Obligate Anaëroben, welche in Luft nicht, aber ohne Sauerstoff leben können.“

Als Typus kann der Bacillus amylobacter gelten.

„B. Falkultative Anaëroben, welche sowohl in Luft als auch ohne Sauerstoff dauernd leben können.“

Für diese Untergruppe stellt Bacillus asterosporus den Typus vor.

„II. Aëroben: Solche Organismen, welche den Sauerstoff der Luft unbedingt nötig haben.“

Unsere früher genannten Arten Bacillus mycoides, Bacillus parvus und pumilus sind verschiedene Vertreter dieser Gruppe.

Nach dem Vorschlage von Arthur Meyer können wir die Gruppeneinteilung für die Praxis noch weiter vereinfachen, wenn wir die aërophilen Bakterien den aërophoben gegenüberstellen. Unter ersteren verstehen wir dann jene Bakterienarten, welche in Luft gedeihen, unter letzteren jene Arten, die niemals in Luft sich zu vermehren vermögen.

Die Bakterien bedürfen zum Aufbau ihrer Leibessubstanz auch noch Wasserstoff, der ihnen ebenfalls in zahlreichen Verbindungen als

Wasserstoffquellen

zur Verfügung steht. Außerdem sind ihnen geringe Mengen Wasserstoff auch in der Atmosphäre in Form elementaren Wasserstoffes zugänglich, ohne daß damit gesagt sein soll, daß sie ihn auch in dieser Form benützen. Wenigstens für einige Fälle dürfte es allerdings der Fall sein, wie im Stoffwechsel des Clostridium Pasteurianum, bei dem der elementare Stickstoff durch Wasserstoff in stutu nascendi möglicherweise zu Ammoniak reduziert wird. Im übrigen wird aus den zur Verfügung stehenden Nährstoffen genügend gebundener Wasserstoff der Zelle zugeführt werden.

Die Quellen für die übrigen notwendigen Elemente, die wir oben aufgezählt haben, bilden entweder dem Kultursubstrat besonders zugesetzte Salze oder gleichzeitig die verwendeten Kohlenstoff- und Stickstoffquellen.

Wesentlich für die Ernährung der Bakterien ist die Art der Darreichung der Nahrung. In allen Fällen ist dieselbe in wässeriger Lösung oder Scheinlösung den Mikroorganismen zu bieten. Es

können dabei gewisse einzelne ungelöste Verbindungen, wie koaguliertes Eiweiß, Zellulose usw. neben den gelösten Nährbestandteilen vorhanden sein. Diese werden dann durch die Tätigkeit der Zellen aufgelöst bzw. in lösliche Verbindungen übergeführt. Denn nur gelöste Verbindungen kommen als Nahrung für die Zelle in Betracht. Wichtig ist noch die **Konzentration** der Nahrungsstoffe. Im allgemeinen genügen zu gutem Wachstum sehr niedere Konzentrationen der Nährstoffe. Es hat sich aber gezeigt, daß auch sehr konzentrierte Lösungen von Salzen und organischen Verbindungen anstandslos vertragen werden. Allerdings werden dabei einzelne Funktionen der Bakterienart hart in Mitleidenschaft gezogen oder fallen gänzlich aus. Die Zulässigkeit hoher Salzkonzentrationen kann darauf zurückgeführt werden, daß die Zelle für die betreffenden Salze sehr durchlässig ist. Sonst müßten sie dadurch plasmolytisch geschädigt werden.

In sehr hohen Salzkonzentrationen durchlaufen die Mikroorganismen meist nicht ihren ganzen Entwicklungskreis; dies offenbart sich besonders deutlich an den sporenbildenden Bakterienarten, die beispielsweise ein anderes Konzentrationsmaximum für Natriumchlorid in bezug auf die Oidienausbildung aufweisen als in bezug auf die Sporenbildung. Für letztere Eigenschaft liegt dasselbe in den meisten Fällen sogar wesentlich tiefer als für die Vermehrung. Auch hier erweist sich also die Vermehrung als weniger empfindlicher Vorgang als die Sporenbildung, was wir auch bei der Beeinflussung durch große Sauerstoffmengen kennen gelernt haben.

Nach Matzuschita liegen die Konzentrationsgrenzen für Natriumchlorid bei einzelnen sporenbildenden Bakterienarten folgendermaßen:

Konzentrationsgrenze für Kochsalz in bezug auf:

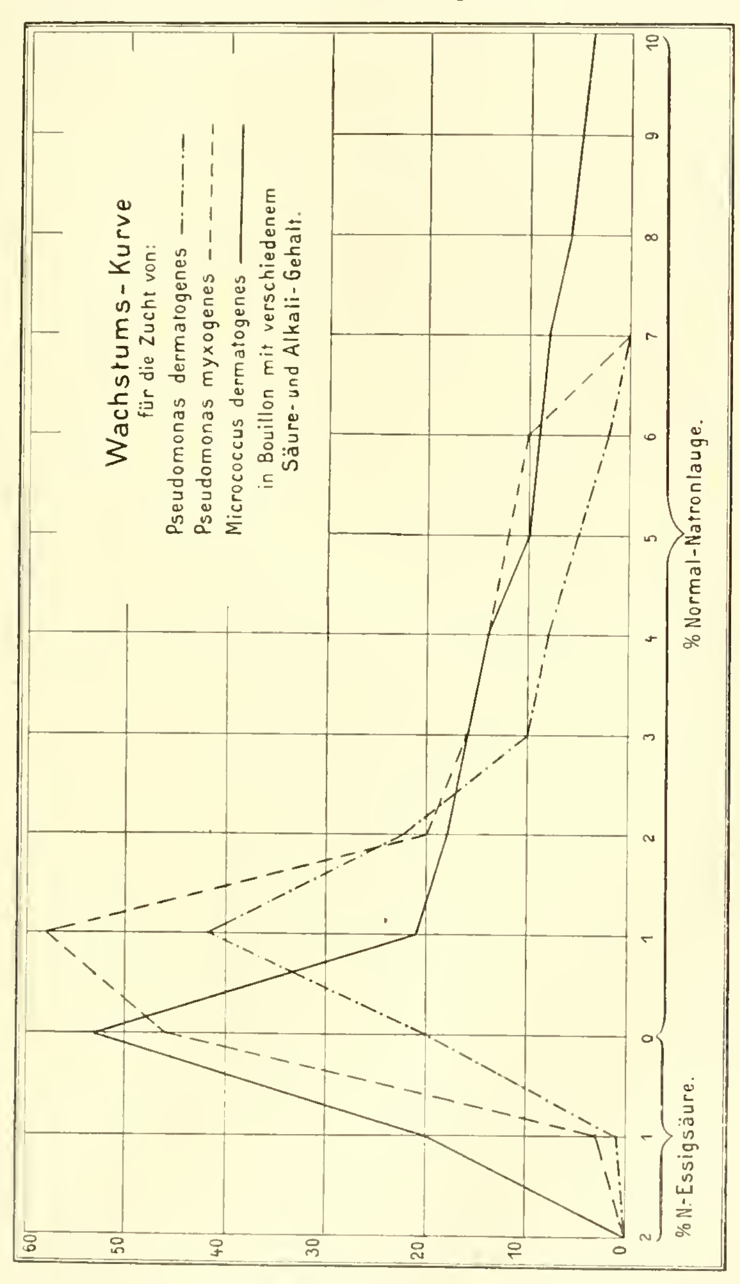
	Wachstum:	Sporenbildung:
Clostridium butyricum . . .	6,5 Proz.	2—4 Proz.
Bacillus sporogenes	7,0 „	5 „
Bacillus botulinus	7,5 „	2—5 „
Bacillus oedematis	7,6 „	6,5 „

Auch auf die **Dissoziationsverhältnisse** der gelösten Nährstoffe in der Kulturflüsstgkeit muß bei der Beurteilung der Ergebnisse von Ernährungsversuchen gebührende Rücksicht genommen werden. In vielen Fällen wird höchstwahrscheinlich dabei weniger das gange Molekül des Nährstoffes in Frage kommen, als gerade die Dissoziationsprodukte.

Weiter von Wichtigkeit ist die **chemische Reaktion** des Nährbodens. In dieser Hinsicht verhalten sich die einzelnen Bakterienarten aber sehr verschieden. Viele, vielleicht die meisten Bakterien, bevorzugen eine sehr schwach alkalische Reaktion des Nährsubstrates. Andere dagegen wachsen bei neutraler Reaktion am besten und wieder andere, gerade technisch wichtige, am besten oder überhaupt nur bei saurer Reaktion der Nährlösung.

Dabei verhalten sich die einzelnen Bakterienarten verschieden in bezug auf die Menge des vorhandenen freien Alkali und in bezug auf die Menge und die Art der Säure. Bei den diesbezüglichen Versuchen müssen natürlich die anderen Wachstumsbedingungen völlig identisch sein, um einen Vergleich der einzelnen Bakterienarten anstellen und dieselben in dieser Hinsicht charakterisieren zu können. Besonders wertvoll sind die

mit den erhaltenen Wachstumsgrößen angefertigten Kurven. Die nebenstehenden Kurven des Wachstums für drei von Fuhrmann genauer untersuchte Bakterienarten lassen die Ansprüche bzw. die Toleranz der-



selben in bezug auf Essigsäure und Natronlange erkennen. Pseudomonas dermatogenes und Pseudomonas myxogenes verhalten sich in bezug auf das Alkaleszenzoptimum gleich. Das Wachstumsoptimum in

Bouillon wird bei einem Gehalte derselben von ca. 1 Proz. Normal-Natronlauge erreicht, das Minimum bei einer Menge von weniger als 2 Proz. Normal-Essigsäure und 7 Proz. Normal-Natronlauge. Der Verlauf der Kurven ist allerdings in beiden Fällen ein etwas verschiedener.

Anders verhält sich der Micrococcus dermatogenes in bezug auf sein Alkaleszenzoptimum und Maximum. Das Säuremaximum, das eben noch eine Vermehrung zuläßt, liegt etwa bei einem Gehalte unter 2 Proz. Normalessigsäure. Das Wachstumsoptimum in Bouillon wird bei neutraler Reaktion derselben erreicht. Im übrigen ist diese Bakterienart für Alkali sehr tolerant, da selbst ein Gehalt von 10 Proz. Normal-Natronlauge das Wachstum noch keineswegs völlig unterdrückt. Wenn wir an Stelle des Natriumhydroxydes Kaliumhydroxyd verwenden, so ändert sich an den Kurven nichts. Anders ist es bei den Säuren, da beispielsweise Salzsäure oder Schwefelsäure schon in niedereren Konzentrationen das Wachstum hemmt als Essigsäure. Dasselbe gilt im allgemeinen auch für Milchsäure und Bernsteinsäure.

Es sei hier nur ein wenig auf die Bestimmung der Wachstumsgrößen eingegangen. Den oben gezeichneten Kurven sind für die Wachstumsgrößen, die auf der Ordinate aufgetragen sind, Zahlen unterlegt, die sich eigentlich auf die unmittelbar gezählte Individuenzahl nach einer bestimmten Züchtungsdauer bei gleicher Temperatur beziehen. Als Verimpfungsmaterial diente eine sehr dünne Aufschwemmung der betreffenden Bakterienart in sterilem Leitungswasser. Von dieser Aufschwemmung wurde in je 10 ccm des verschieden sauren, alkalischen und neutralen Nährsubstrates, in unserem Falle Nährbouillon, eine gleich große Öse voll eingeimpft. Nach einer bestimmten Züchtungsdauer wurden die in einem bestimmten Valumen vorhandenen Zellen gezählt und die Anzahl derselben unmittelbar als Größe des Wachstums angenommen. So erlangt man vollständig brauchbare Vergleichszahlen, die ein genügend genaues Bild der Wachstumsgröße geben. Sie gestatten auch einen ungefähren Einblick in den Wert der betreffenden Nährlösung für die betreffende Bakterienart.

Letzteren bestimmt man in bezug auf die Kohlenstoffquelle nach dem Vorgange von Pfeffer als ökonomischen Koeffizienten einer Nährlösung. Derselbe ist jene Zahl, die angibt, wieviel Gramm Trockensubstanz der Bakterien für 100 g verbrauchte Kohlenstoffverbindung entstanden sind.

Viele Stoffe vermögen das Wachstum zu fördern, ohne selbst ein Nährmittel zu sein. Dies gilt besonders für eine große Anzahl von Giften, die in sehr kleinen Dosen der Bakteriennahrung beigegeben werden. Sie wirken in diesem Falle als Reizmittel, die die Vermehrungsgeschwindigkeit der Zellen erhöhen. Anders verhalten sich organische, giftige Verbindungen, wie Phenol, das in kleinsten Mengen selbst ein, wenn auch minderwertiges, Nährmittel sein kann.

Aus dem bisher mitgeteilten geht schon hervor, daß die Bakterien in ihren Nahrungsansprüchen außerordentliche Verschiedenheiten aufweisen. Damit ist auch schon gesagt, daß es absolut keinen Universalnährboden geben kann, auf dem jede Bakterienart zu gedeihen vermöchte. Dies gibt wieder Winke für die Gewinnung der Bakterien überhaupt und für die Möglichkeit, möglichst viele der bisher nicht züchtbaren Arten doch endlich in Reinkultur zu erhalten. Es tritt bei

den Bakteriologen immer das Bestreben hervor, durch Schaffung besonders günstiger Ernährungsbedingungen für eine einzelne Bakterienart das Überhandnehmen derselben über gleichzeitig vorhandene Begleitbakterien zu fördern und sie endlich rein zu erhalten. Dieser Sinn liegt auch der von Winogradsky inaugurierten „elektiven Kulturmethode" zugrunde, mit der schon reiche Erfolge auf vielen Gebieten der Bakteriologie erhalten wurden. Auch sie sucht den Nährboden gerade den Bedürfnissen jener Mikroorganismen möglichst anzupassen, deren Gewinnung beabsichtigt ist. Anhaltspunkte für die Zusammensetzung solcher ausgewählter Nährsubstrate gibt uns der natürliche Standort der einzufangenden Mikroorganismen, dessen chemische Verhältnisse vorerst auf das genaueste zu ermitteln wir gut tun.

Literatur zur Vorlesung XI.

Kruse, Walter, Allgemeine Biologie. Leipzig 1910.
Benecke, W., Spezielle Ernährungsphysiologie: Die einzelnen Nährstoffe. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 381 ff.
Fischer, Alfred, Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903, S. 92 ff.
Winogradsky u. Omelianski, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 5, S. 329, 1899.
Meyer, Arthur, Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 49, S. 305, 1909.
Bredemann, G., Zentralbl, f. Bakt., II. Abt., Bd. 23, S. 385, 1909.
Reinke, J., Einleitung in die theoretische Biologie. Berlin 1909.
Mazuschita, Archiv f. Hygiene, Bd. 43, S. 267, 1903.
Fuhrmann, F., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 17, S. 361, 454, 616, 1906.
Pfeffer, W., Sitzungsber. d. Kgl. Sächsisch. Gesellsch. d. Wissensch., mathem.-phys. Kl., 1896, S. 513.
Richter, Oswald, Die Bedeutung der Reinkultur. Berlin 1907.
Meyer, Arthur, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903.
Fuhrmann, F., Die wichtigsten Methoden beim Arbeiten mit Pilzen und Bakterien. Abderhalden's Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, Bd. 3, S. 1204, 1910 und Bd. 5, S. 584, 1911.

ZWÖLFTE VORLESUNG.

Physiologie des Bakterienstoffwechsels. Stickstoff- und Kohlensäurekreislauf.

Der Stoffwechsel einer Zelle umfaßt alle jene Vorgänge, die den Fortbestand derselben und ihre gesamten Funktionen erhalten. Dazu gehört vor allem die Ernährung und die Beschaffung der für den Betrieb in der Zelle nötigen Energie. Diese beiden Faktoren zusammen erhalten das Leben der Zelle, lösen eine Reihe von Leistungen derselben auf die umgebenden Körper aus und führen endlich auch zur Bildung von Zellprodukten, die für die Zelle selbst weiter belanglos sein können. Je nachdem die Nährstoffe, die ja für den ständigen Ersatz der lebenden Substanz und für die Energielieferung aufzukommen haben, dem einen oder anderen Vorgang mehr dienen, wurden sie in Bau- und Betriebsstoffe, plastische und dynamogene, unterschieden. Bei dem innigen Zusammenhang beider und der großen Unkenntnis über die wirkliche Ausnutzung in dieser Hinsicht, ist eine solche künstliche Gruppierung im Grunde genommen überflüssig. Außerdem liegt darin eine zu große Verallgemeinerung, denn was in dem einen Falle Baustoff ist, ist in dem anderen Betriebsstoff.

Ganz allgemein setzen sich die Lebensvorgänge aus zwei entgegengesetzt tätigen Vorgängen zusammen, die im wesentlichen in Synthesen und Abbauvorgängen bestehen. Nach allen sich in der Zelle abspielenden Erscheinungen, wie Bildung und Verschwinden von gewissen Zellbestandteilen, Granulationen usw., dürfen wir mit Recht die Anschauung vertreten, daß die lebende Substanz einem ständigen Wechsel, einem fortwährenden Auf- und Abbauprozeß unterliegt. Dabei entstehen ununterbrochen äußerst labile Verbindungen, die eben das lebende Eiweiß, das Protoplasma, ausmachen. Gehen sie in stabile Verbindungen über, dann lebt die Zelle nicht mehr, dann ist sie tot.

Man bezeichnet nun die Umwandlung der zugänglichen Nahrung in die Leibessubstanz der Zelle als **Assimilation** und die im Leben immer auftretenden Abbauprozesse minder glücklich als Dissimilation, oder besser einfach als Zersetzungsvorgänge. Auch diese beiden Prozesse sind naturgemäß innig mit einander verknüpft und sollen hier nur aus Gründen der leichteren Besprechung auseinandergehalten werden.

Wie nun die Assimilation in ihren Phasen vor sich geht, wissen wir keineswegs, obwohl darüber einige Hypothesen bereits aufgestellt sind.

Wir kennen zurzeit nur die dabei auftretenden Endprodukte und vielleicht einige Begleitprodukte; unter letzteren wollen wir Stoffe verstehen, die für die Zelle selbst entweder eine Bedeutung besitzen oder nicht, selbst aber auch losgetrennt von der lebenden Zelle noch dieselben Eigenschaften und Wirkungen äußern, wie im Verein mit der lebenden Zelle. Die Endprodukte sind das lebende Eiweiß, einschließlich der Nukleinverbindungen und die Haut- und Gerüstsubstanzen der Zelle, soweit sie einen integrierenden Zellbestandteil ausmachen. Die Bakterienmembran gehört ebenfalls hierher als lebenswichtige Zellorganelle. Zu den Begleitprodukten können wir die verschiedenen Enzyme als lebenswichtige, aber selbst nicht lebende Substanzen rechnen, die Farbstoffe der Bakterien als meist bedeutungslose Nebenprodukte usw. Die Ausgangsprodukte, an denen die Assimilation einsetzt, sind uns für die Pilze kaum bekannt, da wir zwar wissen, welche Verbindungen und in welcher Konzentration wir dieselben den Mikroorganismen zur Verfügung stellen müssen, nicht aber in welchem Zustande des Abbaues sie der Assimilation unterliegen oder ob sie unzerlegt sich an der Synthese beteiligen.

Wir können darüber höchstens bei den Mikroorganismen, die mit sehr einfachen Verbindungen ihre Leibessubstanz aufzubauen vermögen, berechtigte Vermutungen äußern, die sich z. B. in bezug auf die Stickstoffernährung des Bacillus amylobacter A. M. u. Bredemann allerdings zur Gewißheit verdichten, daß diese Art ihren Stickstoffbedarf auch durch elementaren Stickstoff zu decken vermag. Denn in der sog. „stickstoffreien“ Nährlösung vermehren sich die Bakterien stärker, als den äußerst geringen Mengen des in dieser Nährlösung vorhandenen gebundenen Stickstoffes entsprechen würde.

Wo aber kompliziertere Verbindungen als Nährstoffe Aufnahme finden, dort können wir nicht mehr Tatsachen feststellen. Wir wissen nur soviel, daß die Verbindungen, die zur Assimilation gelangen sollen, in Wasser gelöst sein müssen und das Plasma der Zelle selbstverständlich für dieselben durchgängig sein muß. Welche Einrichtungen den Stoffaufbau besorgen, ob dabei enzymatisch beschleunigte Vorgänge eintreten oder ob es sich dabei um eine unmittelbare Tätigkeit des Protoplasmas handelt, entzieht sich vorläufig unserer Erkenntnis ebenso wie die feineren Lebensvorgänge selbst. Aller Wahrscheinlichkeit nach dürften dabei die verschiedensten Enzyme mit im Spiele sein.

An dieser Stelle seien noch diejenigen Ausdrücke kurz erläutert, die sich auf die Möglichkeit der Assimilation von bestimmt charakterisierten Verbindungen durch die Mikroorganismen eingebürgert haben. Wir haben schon in der vorigen Vorlesung von prototrophen und metatrophen Bakterien gehört. Nach Pfeffer kann man die autotrophen Bakterien von den heterotrophen trennen, wobei in erster Linie an die Kohlenstoffaufnahme gedacht ist. Erstere vermögen Kohlensäure zu assimilieren, letztere aber nur organische Kohlenstoffverbindungen. In dem Sinne kann man auch von Stickstoffautotrophie, Stickstoffheterotrophie usw. sprechen. Dazu ist nur zu bemerken, daß eine vollkommene Heterotrophie in bezug auf alle notwendigen Elemente überhaupt nicht bekannt geworden ist, da einzelne derselben immer aus unorganischen Salzen von den heterotrophen Bakterien aufgenommen werden. Wenn nun bei einer Bakterienart für eine Reihe von Elementen Heterotrophie herrscht, für andere Autotrophie, so kann man sie mit Pfeffer als mixotroph bezeichnen.

Gleichzeitig mit der Assimilation spielen sich in der Bakterienzelle Zersetzungsvorgänge ab, die, wie schon angedeutet, als

Dissimilation

zusammengefaßt werden. Dieselbe hat einerseits die der Assimilation dienenden Verbindungen aus komplizierteren Stoffen abzubauen und andererseits durch Auslösung energieliefernder Prozesse die für die Zellarbeit, Bewegung, Synthese usw. notwendigen Kräfte zu liefern. Dabei wird immer noch ein mehr oder minder großer Zerfall der eigenen Leibessubstanz des Organismus anzunehmen sein. Zur Unterhaltung dieser Vorgänge erzeugt die Zelle besondere Stoffe, Enzyme, die in erster Linie komplexe außerhalb der Zelle (gelöst oder ungelöst) befindliche Verbindungen in diejenigen Bausteine zerlegen, die ins Protoplasma diffundieren können und dort wieder in den Eiweißkomplex eingeführt werden. Wir haben in diesem Sinne wirksame Stoffe als Ektoenzyme bereits kennen gelernt. Die Endoenzyme äußern gleiche Wirkungen in der Zelle. Ein großer Teil der bei diesen Spaltungen innerhalb der Zelle freiwerdenden Energie kann der Zelle selbst zugute kommen, sofern sie nicht in Form von Wärme an die Umgebung abgegeben wird. Schon aus den wenigen Andeutungen entnimmt man, daß eine strikte Scheidung der Dissimilationsvorgänge nicht möglich ist. Außerdem werden die Zersetzungen noch Stoffe einfacher Natur liefern, die für den betreffenden Organismus als wertlos, wenn nicht schädlich angesehen werden müssen. Gemeint sind hier vor allem die Auswurfsstoffe der Zelle, Abfallprodukte, die sich besonders dadurch auszeichnen, daß sie meist sehr einfache und sehr stabile Verbindungen sind oder rasch in solche übergehen. Für andere Mikroorganismen sind sie dennoch mitunter ausgezeichnete Nährstoffe.

Man ist gewohnt, in der Atmung, einem Teilvorgang der Dissimilation, die beste und ertragreichste Energiequelle eines Organismus zu erblicken. Wir verstehen unter Atmung ganz allgemein durch den Organismus unter Aufnahme von Sauerstoff ausgelöste Oxydationszersetzungen, deren Endprodukte Kohlensäure und Wasser sind. Die Zelle verbraucht also Sauerstoff und gibt Kohlensäure und Wasser ab. Diese Oxydation spielt sich unmittelbar im Protoplasma ab, aus dem dabei die genannten Endprodukte abgespalten werden. Diese Begriffsfassung gilt in erster Linie für die Atmung unter Zutritt der Luft. So werden also die aeroben Bakterien atmen können.

Die oxydative Zersetzung erstreckt sich nun auf die verschiedensten Kohlehydrate und Stickstoffverbindungen. Im allgemeinen werden aber erstere bevorzugt. Man hat sich die Zerlegung des Zuckers bei der Atmung sehr einfach vorgestellt, doch heute wissen wir, daß dieser Prozeß über eine Reihe von Verbindungen hinüber nach Aufnahme desselben ins Protoplasma mit Hilfe von Enzymen geschieht. Auch muß dabei nicht eine vollständige Verbrennung auftreten, weshalb das erhaltene Kohlensäurevolumen keineswegs der aufgenommenen Sauerstoffmenge gleich zu sein braucht. Außerdem ist dabei zu bedenken, daß als Ausgangsmaterial für die Atmung nicht allein der Zucker dient, sondern auch stickstoffhaltige Verbindungen, bei deren Spaltung ebenfalls Atmungsmaterial neben anderen komplexen Verbindungen entsteht, die dann bei der Weiterzerlegung auch gewisse Mengen Kohlensäure und

Wasser ergeben. Diese Komplikationen erschweren es außerordentlich, experimentell den Atmungsvorgängen näher zu treten und diesen Prozeß von anderen Zersetzungsvorgängen streng zu sondern Denn wie schon gesagt, erfolgt bei der Atmung die Abspaltung der Endprodukte Kohlensäure und Wasser immer aus der Protoplasmaverbindung selbst.

Wensentlich anders verläuft die Atmung dann, wenn der Luftsauerstoff fehlt. Wir haben schon zahlreiche Bakterien kennen gelernt, die auch ohne irgend eine Spur freien Sauerstoffes zu leben vermögen. In diesem Falle gehen eine Reihe von inneren Oxydationen im Molekül von statten, die naturgemäß von Reduktionen begleitet sein müssen, da von außen her kein freier Sauerstoff zugeführt wird. Man bezeichnet diese Art von Atmung ganz allgemein als „intramolekulare Atmung" (Pfeffer). Es wird dabei Kohlensäure und Wasser ebenfalls von Molekülen der Leibessubstanz selbst abgespalten, während der dazu notwendige Sauerstoff anderen Verbindungen oder den Molekülen der veratmeten Verbindung entnommen wird. Im letzteren Falle finden also Umsetzungen von Sauerstoffatomen im Molekül statt. Daneben können noch andere Vorgänge, wie die alkoholische Gärung oder die Buttersäuregärung usw. auftreten, die neben dem Hauptgärungsprodukt noch andere Stoffe liefern, darunter auch Kohlensäure. Man ist dementsprechend nicht berechtigt, in der inneren Atmung eine alkoholische Gärung zu erblicken; es handelt sich vielmehr um Prozesse, die in vielen Fällen nebeneinander verlaufen. Die Sauerstoffübertragung bei der Atmung geschieht höchstwahrscheinlich mittels Oxydasen, also Enzymen, deren Wirkungsweise wir schon früher kennen lernten.

Man hat auch jene Oxydationsprozesse, bei denen Bakterien Ammoniak in Nitrite, letztere in Nitrate, oder Schwefelwasserstoff zu Schwefel und weiterhin zu Sulfaten oxydieren, als zur Atmung gehörig bezeichnet, wie wohl dabei keine Kohlensäurebildung möglich ist. Dabei hatte man immer nur den unmittelbaren Energiegewinn im Auge, der aus solchen Vorgängen für die Zelle entstehen soll. Das gleiche gilt für die alkoholische Gärung, Fäulnis usw. Alle zur Atmung gehörigen Reaktionen sind exotherm, liefern also Wärme, deren Menge man unmittelbar in Kalorien berechnen kann. Diese Wärme geht nun sofort an die Umgebung über und ist somit als Energie für die Zelle dauernd verloren. Daß Wärme aber tatsächlich bei solchen Umsetzungen in großer Menge frei wird, sehen wir an der Erwärmung, die bei allen Gärungen und Atmungen unmittelbar meßbar auftritt.

Wenn wir in der Atmung eine Energiequelle für den Zellbetrieb sehen wollen, dürfen wir den Energiegewinn nicht unmittelbar auf die bei der Oxydation freiwerdende Wärme beziehen. Indirekt kann sie allerdings ein Energie liefernder Prozeß sein, indem durch die Oxydation Verbindungen entstehen, die mehr osmotische Energie besitzen oder in bezug auf ihre elektrische Ladung größere Potentialdifferenzen auslösen und so Energieformen herstellen, die in Bewegung und andere Arbeitsleistungen umgesetzt werden. Solche können wir aber von der bei der Atmung freigewordenen Wärme nicht mehr annehmen. Im übrigen stehen ja der Zelle noch eine Reihe anderer Energiequellen zur Verfügung, die sehr beträchtlich sind. Da ist vor allem die Quellung und die Oberflächenspannung zu nennen. Wir sind deshalb berechtigt, die Atmung nur im besten Falle ,für einen kleinen Energiegewinn verant-

wortlich zu machen und die Hauptmenge derselben anderen Energiequellen zuzuschreiben.

Wir haben alle jene Vorgänge kurz erörtert, die für den Lebensunterhalt und die Vermehrung der Mikroorganismen von Bedeutung sind. Wenn wir an der Hand unserer bisherigen Auseinandersetzungen das Leben einer Bakterie kurz verfolgen und dazu als Beispiel Nitrifikationsmikroben wählen wollen, die nur mit den einfachsten Verbindungen als Nahrung vorliebnehmen, so kommen wir zu folgendem Ergebnis:

Die Ammoniak zu Nitrit oxydierenden Bakterien vermehren sich in sehr einfach zusammengesetzten Nährsubstraten, wie beispielsweise in der von Winogradsky angegebenen Nährlösung, bestehend aus

Ammonsulfat	2,0 g
Kaliumphosphat	1,0 „
Magnesiumsulfat	0,5 „
Chlornatrium	2,0 „
Eisenoxydul	0,4 „
dest. Wasser	1000 ccm.

Basisch kohlensaure Magnesia im Überschuß.

Der Nährboden ist frei von organischen Verbindungen, obwohl er alle Elementarbestandteile, die für die Zelle wesentlich sind, enthält. Mit diesen Verbindungen unter Hinzutritt der Luft leben die genannten Bakterien. Der Lebensprozeß wird wohl so verlaufen, daß aus diesen Verbindungen die Leibessubstanz aufgebaut und die dazu erforderliche Energie gewonnen wird. Wenn wir die Aufbau- und Abbauprozesse näher betrachten, so finden wir, daß die Nitritbakterien ihren Kohlenstoffbedarf aus freier und halbgebundener Kohlensäure decken, ihren Stickstoffbedarf aber aus Ammonstickstoff, da nach eingehenden Untersuchungen Godlewskis in der Luft etwa vorhandene organische Verbindungen für diese Prozesse nicht in Frage kommen. Die übrigen Zellelemente stehen ohnehin in der Nährlösung zur Verfügung und werden aus den oben zusammengestellten Verbindungen entnommen. Daneben wird noch ein sehr ausgiebiger Oxydationsprozeß unterhalten, der große Mengen Ammonstickstoff in Nitrit überführt. Derselbe ist gegenüber der vorhandenen Anzahl Zellen sehr groß, denn das Verhältnis zwischen dem in Nitrit oxydierten Stickstoff und dem in die Leibessubstanz übergeführten Kohlenstoff — (N : C) — ist im Mittel durch die Zahl 35,4 gegeben. Das heißt nichts anderes, als daß einem Teile assimilierten Kohlenstoffes 35,4 Teile oxydierten Stickstoffes entsprechen, was in salpetrige Säure umgerechnet, 96 Teile derselben ausmacht. Das Wachstum und die Vermehrung dieser Organismen ist auch außerordentlich langsam gegenüber der Oxydationsleistung derselben. Die Oxydation des Ammonstickstoffes zu salpetriger Säure ist ein exothermischer Prozeß, bei dem Wärme als Energie frei wird. Da wir uns den ganzen Prozeß als intrazellular zu denken haben, so wird diese Wärme in der Zelle frei. Trotzdem ist sie der Zelle verloren, wenn sie an die Außenwelt abgegeben wird, was aber eintreten muß, sobald sie überhaupt frei wird. Damit daraus für die Zelle ein Energiegewinn zustande kommt, müßte dieser Oxydationsprozeß die Energie bereits in anderer Form liefern oder mindestens einen Teil derselben. Hier versagen aber unsere Kenntnisse. Wir wissen nur, daß die Zelle Energie braucht, sie auch gewinnt, da sie lebt und Arbeit leistet;, woher sie aber in letzter Linie

genommen wird und in welcher Form, darüber sind wir nicht unterrichtet. Wir können nach reiflicher Überlegung aller Atmungserscheinungen nur sicher erklären, daß dadurch ein unmittelbarer Energiegewinn nicht resultieren kann, wenn der Oxydationsprozeß freie Wärme liefert.

Bei den viel anspruchsvolleren Fäulnisbakterien ist der ganze Zellhaushalt und die Vermehrung weitaus komplizierter, da die Kohlen- und Stickstofflieferanten hier organische Verbindungen mehr oder minder komplizierter Natur sind. Im allgemeinen werden die Assimilationsvorgänge und auch die Dissimilation von der gleichen Art wie früher sein, wenn auch die Ausgangsmaterialien andere sind. Um hier die Verhältnisse beurteilen zu können, müssen wir wieder jene Vorgänge, die den Zellaufbau und den Energiegewinn besorgen, von denjenigen trennen, die nebenher mit verlaufen und kolossale Umsetzungen des umgebenden Nährsubstrates herbeiführen. Auch hier werden ohne Nutzen für die Zelle riesige Stoffmengen durch entsprechende Enzyme zerlegt und Wärme freigemacht, ohne daß dabei irgend ein Energiegewinn entsteht. Außerdem wird von den entstehenden Abbauprodukten nur eine minimale Menge als Zellnahrung dienen, da die Zellvermehrung mit der Menge aufgespaltener Substanz in keinem Zusammenhange steht. Zu ähnlichen allgemeinen Ergebnissen gelangen wir bei der näheren Betrachtung aller durch Kleinlebewesen bewirkten Umsetzungen und der Ernährungserscheinungen selbst.

Einen weitaus besseren Einblick in die Ernährungsphysiologie liefert uns eigentlich die Selbstverbrennung der Zellen, die nach dem Tode derselben der Autolyse das Feld räumt.

Die Selbstverbrennung der Zelle tritt dann ein, wenn luftliebende Mikroorganismen plötzlich in eine sauerstoffreie Atmosphäre und in eine nährstofflose Lösung gelangen. Dann setzt immer eine Zeitlang die intramolekuläre Atmung ein, wobei es zur oxydativen Zersetzung der eigenen Leibessubstanz unter Kohlensäure und Wasserabgabe kommt. Solange sich in der Zelle Reservestoffe gespeichert finden, wird der Stoffwechsel normal oder wenigstens annähernd normal vor sich gehen. Sobald diese aber assimiliert und veratmet sind, dann setzt das Hungerstadium ein, das in der allerkürzesten Zeit zu einem starken Defizit an Plasmasubstanz führt. Assimilation und Dissimilation verlaufen immer träger und die Atmung steht schließlich still, was rasch zum Tode führt. Die Enzyme sind nach dem Tode unabhängig von der Zelle noch wirksam und bauen die restlichen Protein- und Nukleinverbindungen zu den schon früher genannten einfachen Spaltungsprodukten ab. Wir haben dann das Bild der Autolyse oder Selbstverdauung der Zelle vor uns.

Ganz eigenartig muß der Stoffwechsel der ruhenden Spore sein, wenn in ihr ein solcher überhaupt besteht. Dieselbe lebt zwar oder besitzt wenigstens die Fähigkeit, auf äußere Einflüsse hin sofort aufzuleben, was daraus hervorgeht, daß sie nach jahrelanger Ruhe, in geeignete äußere Bedingungen gebracht, sofort keimt.

Während der Ruhe muß der Gesamtstoffwechsel der Spore auf ein äußerstes Minimum herabgedrückt sein, da schon durch den geringen Wassergehalt derselben die gesamten Reaktionen außerordentlich verlangsamt, wenn nicht teilweise gänzlich aufgehoben werden. Das gilt noch vielmehr für den Fall, wenn man die Sporen in einen Exsikkator bringt und maximal austrocknet. Ich glaube nicht, daß es gelingt, das Wasser aus denselben gänzlich zu entfernen. Dies dürfte schon durch die starke und eigenartige

Zellwand derselben verhindert werden. Eine Vorstellung von einem vorübergehenden Stillestehen jedweder Lebenstätigkeit, also einer Lebenspause, können wir uns kaum machen, obwohl daran schließlich auch zu denken ist. Darnach befindet sich die reife, ruhende Spore in einer Art von Spannungszustand, der nur der auslösenden Wirkung von außen her bedarf, um den Stoffwechsel, also die Keimung, in Gang zu bringen. Man könnte sich das vielleicht so denken, daß die durch den Wassermangel oder durch andere uns nicht bekannte innere Ursachen nicht mehr sehr labilen Plasmaverbindungen längere Zeit in diesem Zustand ohne Zerfallserscheinungen und Arbeitsleistungen verharren können, um dann wieder bei Wasseraufnahme und Energiezufuhr von außen her sofort die für das Leben unerläßlichen Umsetzungen aufzunehmen. Während dieser Lebenspause wird also das Plasma in einem gewissen Lebenszustande durch äußere oder vielleicht auch innere Ursachen vorübergehend festgehalten, ohne daß es in demselben zu echten Gleichgewichten käme. Vielleicht paßt hier der Vergleich mit einem schwingenden Pendel, das, durch ein Hindernis außerhalb der Ruhelage festgehalten, gleichsam gesperrt ist. Sobald die Sperrung durch äußere Kraft entfernt wird, schwingt es weiter. Indem wir den Sporen Wasser zuführen, erhöhen wir in ihnen durch Verdünnung der löslichen Produkte die Reaktionsfähigkeit, erzeugen aber gleichzeitig Energie, da sehr bedeutende Quellungen auftreten, die von großen Druckwirkungen begleitet sind. Dann setzt auch schon der Keimungsprozeß ein, der selbst von der Anwesenheit von Nährstoffen ziemlich unabhängig ist.

Erst das eben gekeimte Keimstäbchen muß letztere in genügender Menge und passender Form zur Verfügung haben. Auch der Sauerstoffgehalt der Luft spielt dabei eine sehr untergeordnete Rolle. Haben wir doch früher gesehen, daß die Sporenkeimung in dieser Hinsicht ein sehr wenig anspruchsvoller Vorgang ist.

Beim Einfrieren in sehr tiefen Temperaturen, das von vegetativen Bakterienzellen im allgemeinen sehr gut überdauert wird, haben wir auch ein vorübergehendes Einstellen aller Lebensfunktionen, die nach dem Wiederauftauen sofort wieder einsetzen.

Nachdem wir in groben Umrissen die Grundlagen der Ernährung der Bakterien und ihre durch die Enzyme herbeigeführten Umsetzungen, Zerlegungen und Gärungen der verschiedensten Stoffe kennen gelernt haben, können wir uns auch ein Urteil über die Wirkungsweise derselben im Verein mit den andern höheren Organismen und Mikroorganismen in der freien Natur bilden. Sowohl der Stickstoff als auch der Kohlenstoff und alle anderen für die Organismen unbedingt notwendigen Elemente befinden sich in einem ständigen Kreislauf, der mit dem Vergehen und Werden der lebenden Materie aufs innigste zusammenhängt. Es wird uns genügen, wenn wir hier in aller Kürze unter Weglassung der weniger wichtigen Nebenvorgänge den Kreislauf des Stickstoffes und der Kohlensäure betrachten.

Beginnen wir mit dem

Kreislauf des Stickstoffes.

Neben elementarem Stickstoff finden sich in der Natur eine große Anzahl von stickstoffhaltigen Verbindungen, aus denen mittelbar oder unmittelbar der Bedarf der verschiedenen Organismen an diesem

zum Leben unbedingt notwendigen Element gedeckt wird. Der Pflanze stehen in erster Linie der elementare Stickstoff, der Ammonstickstoff und auch der Salpeterstickstoff zur Verfügung; von diesen Stickstoffquellen wird unmittelbar nur der Ammon- und der Nitrat- oder Salpeterstickstoff assimiliert; außerdem kann die höhere Pflanze einschließlich einiger Pilze auch den Nitritstickstoff verwerten, während der elementare Stickstoff nur von gewissen Mikroorganismen aufgenommen und zu Leibessubstanz verarbeitet werden kann. Es sind in erster Linie zwei Kategorien von Bakterienarten, die Stickstoff binden. Die eine umfaßt eine Reihe frei im Boden lebender Bakterien, die durch ein hohes Stickstoffbindungsvermögen ausgezeichnet sind, wie Clostridien (Amylobakterarten) und Azotobakter. Die zweite Gruppe vereint Bakterienarten, die, erst in die Wurzel einer Pflanze eingewandert, dort freien Stickstoff assimilieren und diesen dann der betreffenden Pflanze teilweise in assimilierbarer Form zuführen teilweise aber als Leibessubstanz festlegen. Wir wir später noch genauer erfahren werden, verursachen diese Bakterien speziell an den Wurzeln der Leguminosen Knöllchen, weshalb man sie auch als Knöllchenbakterien bezeichnet. Auch Fadenpilze in der Wurzel anderer Gewächse, Erle usw., assimilieren freien Stickstoff, was hier nur nebenbei erwähnt sei. In der freien Natur setzt nun die Fäulnis wieder große Stickstoffmengen in Freiheit; außerdem dient die Pflanze den Tieren als Nahrung, die einen großen Teil des aufgenommenen und in Leibessubstanz umgewandelten Stickstoffes wieder in Form von Kot und Harn zeitlebens abgeben. Tiere dienen anderen Tieren wieder zur Nahrung und so pflanzt sich der Kreislauf in einer Kette fort. Der im Tierkörper während des Lebens im Eiweiß und anderen Verbindungen befindliche Stickstoff wird nach dem Tode durch die Fäulnis teils als elementarer Stickstoff allerdings in geringer Menge in Freiheit gesetzt, teils in einfache Ammonverbindungen und dergl. übergeführt, die wieder unmittelbar Pflanzen zur Nahrung dienen oder meistens durch Bakterien in andere Stickstoffverbindungen umgewandelt werden, die ebenfalls der Pflanze als Stickstoffquelle zur Verfügung stehen. So können die Nitritbakterien den Ammonstickstoff zu Nitritstickstoff oxydieren, den die Nitratbakterien weiter zu Nitratstickstoff oxydieren. Die im Kot und Harn der Tiere abgegebenen Stickstoffverbindungen unterliegen ebenfalls der Fäulnis und Gärung, wobei wieder eine Reihe einfacher Stickstoffverbindungen entsteht, die die Pflanze assimilieren kann. So liefert die Harngärung Ammoniakstickstoff, der einerseits Pflanzen unmittelbar ernähren kann, andererseits von den oben genannten Salpeterbakterien in Nitrit- und Nitratstickstoff übergeführt wird.

Wenn wir uns eine Vorstellung von dem Stickstoffkreislauf machen wollen, müssen wir sagen, daß der Stickstoff sich in verschiedenen Verbindungen ständig durch die lebende Substanz hindurch bewegt, was ja beim Tier ganz besonders augenfällig ist. Unter Außerachtlassung von zahlreichen Nebenvorgängen und Einzelerscheinungen ist in der folgenden Figur 61 der Versuch unternommen worden, den Gang des Stickstoffkreislaufes durch Linien im wesentlichen darzustellen. Dabei betreffen die gestrichelten Linien den elementaren Stickstoff, die strichpunktierten den Ammonstickstoff, die punktierten den Nitritstickstoff und endlich die dick, voll ausgezogenen den Nitratstickstoff, während die Zwischenvorgänge durch voll ausgezogene, dünne Linien angedeutet sind. Wir entnehmen

sofort, daß die höheren Pflanzen alle vier an den Ecken angeschriebenen Stickstoffquellen gebrauchen können, während die höheren Pilze nur auf

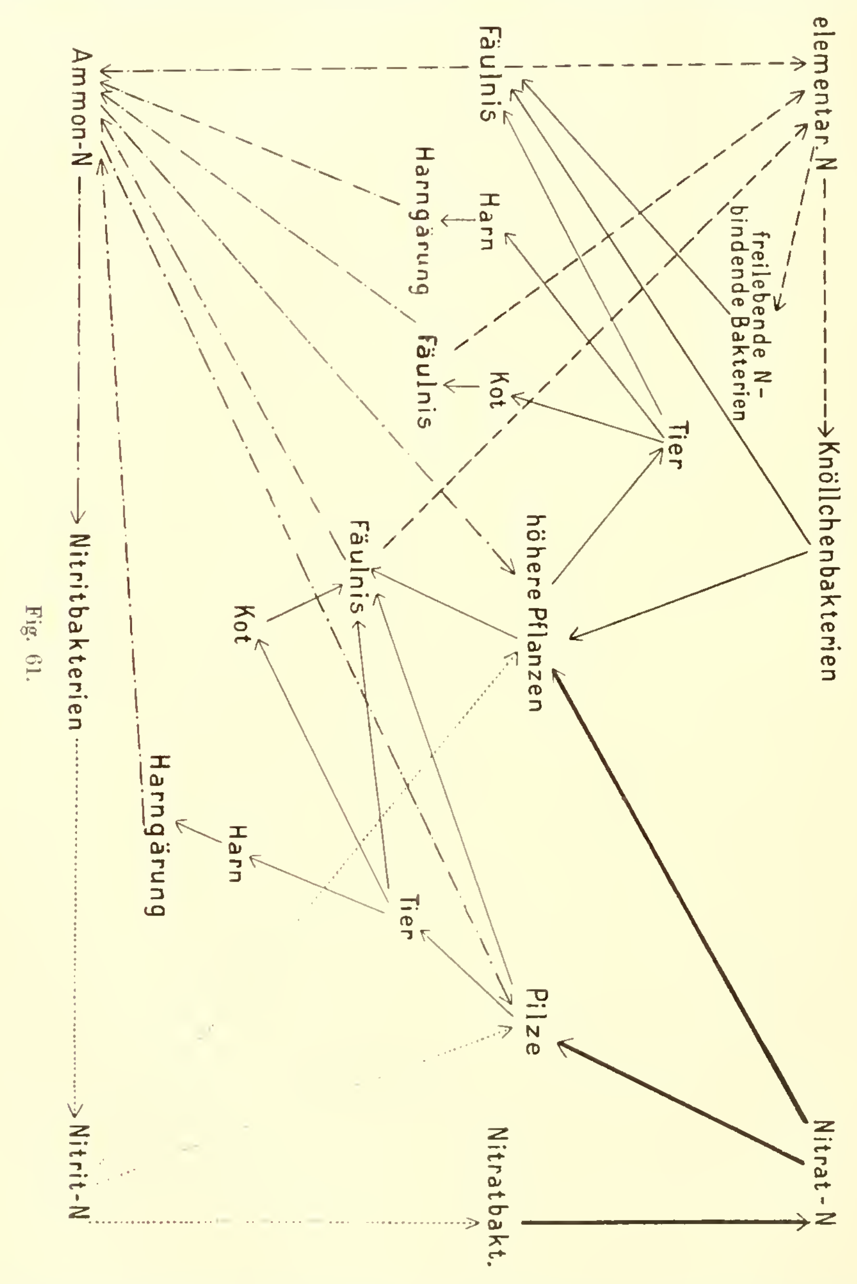


Fig. 61.

drei Stickstoffquellen angewiesen sind. Wenn wir den Gang des Stickstoffes den Pfeilrichtungen entsprechend verfolgen, kommen wir an kein Ende, wo immer wir auch anfangen.

Bei unserer bisherigen Auseinandersetzung des Stickstoffkreislaufes haben wir der Einfachheit und Übersichtlichkeit wegen als organische Stickstoffverbindungen nur Eiweiß, Kot und Harnstoff berücksichtigt. Natürlich unterliegen auch alle anderen stickstoffhältigen Verbindungen des Tier- und Pflanzenkörpers der Zersetzung und Umwandlung, wobei ebenfalls recht beträchtliche Stickstoffmengen in den Kreislauf wieder eingeführt werden. Trotzdem wird die Hauptmenge des kreisenden Stickstoffes in seinem Gang dem oben gegebenen Schema folgen.

In demselben haben wir allerdings einen in der Natur ziemlich weit verbreiteten Vorgang nicht berücksichtigt, der ebenfalls freien Stickstoff liefert. Im Laufe der Zeit wurden Bakterien bekannt, die aus Salpeter Stickstoff freimachen und so die Menge der von den Pflanzen unmittelbar assimilierbaren Stickstoffverbindungen verringern. Man hatte eine Zeit hindurch, besonders in der Landwirtschaft diesem Prozesse der Denitrifikation im gedüngten Ackerboden eine viel zu große Bedeutung beigemessen und Befürchtungen schwerster Natur für den Fortbestand der Pflanzenwelt gehegt. Gewiß wird dieser Vorgang in manchen Fällen den Stickstoffertrag eines Landstriches wesentlich ungünstig beeinflussen können, indem mehr elementarer Stickstoff entbunden wird, als durch die stickstoffbindenden Organismen wieder in den Kreislauf desselben eingeführt wird. Dieses vielleicht gelegentlich auftretende Defizit an gebundenen Stickstoff wird aber niemals derartige Größen erreichen, daß Störungen von großer Tragweite entstehen würden.

Wie der Stickstoff sich in der Natur immer in einem Kreislauf bewegt, so finden wir noch einen

Kreislauf des Kohlenstoffes

durch die Kohlensäure hindurch. Bei allen Lebensprozessen wird durch die Atmung beständig Kohlensäure in größeren oder geringeren Mengen aus dem Organismus ausgeschieden. Auch die Fäulnis und Gärung entbindet Kohlensäure. Damit sind die Kohlensäurequellen noch lange nicht erschöpft, da ja bei jeder Verbrennung ebenfalls Kohlendioxyd entsteht. Diese Kohlensäuremengen gehen nun über die höhere Pflanze hinüber wieder in die Verbindungen des Zellplasmas und in die Kohlehydrate hinein, wenn wir davon absehen, daß auch gewisse Bakterien (z. B. Salpeterbakterien) befähigt sind Kohlensäure zu assimilieren. Die grünen Land- und Wasserpflanzen, die braunen, roten und grünen Algen des süßen und des Seewassers vermögen Kohlendioxyd unter Zuhilfenahme der Energie des Lichtes zu assimilieren, also daraus ihren Kohlenstoffbedarf für ben Aufbau der Leibessubstanz und der Kohlehydrate zu decken.

Die in der Pflanze gebildeten, organischen Kohlenstoffverbindungen sind die einzigen Kohlenstoffquellen für die Tiere. Letztere selbst samt ihren Ausscheidungen und die Pflanzen decken wieder den Kohlenstoffbedarf der höheren und niederen Pilze und Bakterien, wenn wir von einzelnen Ausnahmen und Nebenvorgängen absehen wollen, die das Wesen der Sache nicht ändern.

Alle Organismen geben bei der Atmung, wie wir bereits hörten, Kohlendioxyd ab; die Gärungs- und Fäulnisvorgänge zerspalten und zertrümmern die Kohlehydrate und Eiweißstoffe des Tieres und der Pflanzen,

wobei neben anderen Produkten immer auch Kohlensäure frei wird. Die Gesamtkohlensäuremenge, die durch die genannten Prozesse gebildet wird, steht wieder der gefärbten Pflanze und durch sie hindurch dem Tiere als Kohlenstoffnahrung zur Verfügung. Damit haben wir auch schon den Gang des Kohlensäurekreislaufes in der Natur erfaßt und von diesen Gesichtspunkten aus ist auch die schematische Zeichnung dieses Vorganges in der Figur 62 angefertigt worden.

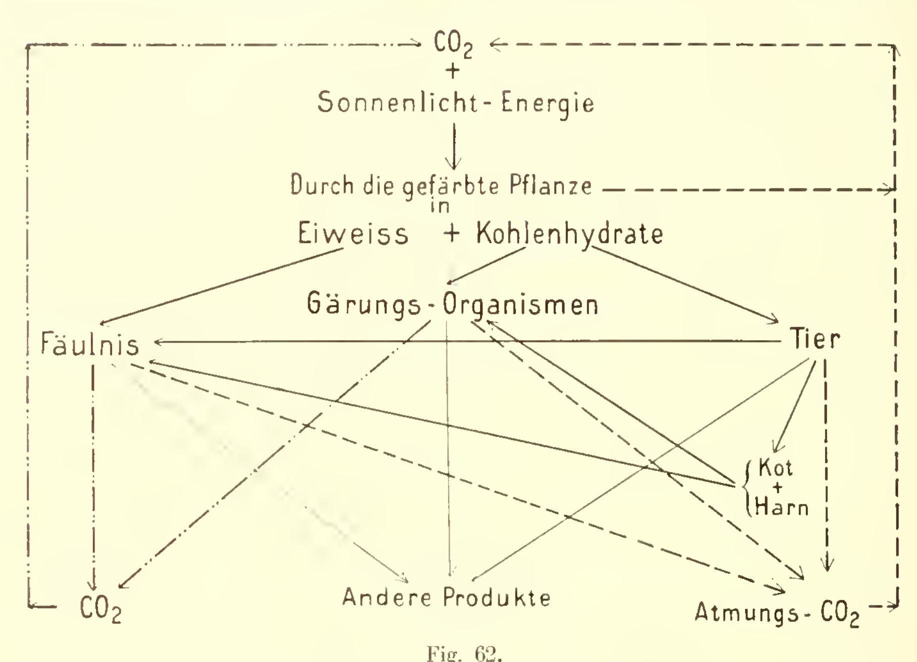


Fig. 62.

Die Atmungskohlensäure ist durch gestrichelte Linien angedeutet, die Gärungs- und Fäulniskohlensäure durch strichpunktierte Linien. Die Pfeilrichtung gibt den Gang des Kreislaufes an. Auch hier kehren wir auf allen Wegen in der Pfeilrichtung wieder zurück zum freien Kohlendioxyd, gehen wir aus von wo immer. Wir müssen nur von den als „andere Produkte“ angeschriebenen Stoffen absehen, die zwar auch bei ihrer Zersetzung Kohlensäure liefern, aber der Einfachheit wegen nicht weiter berücksichtigt wurden.

Literatur zur Vorlesung XII.

Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Leipzig 1897.

Benecke, W., Allgemeine Ernährungsphysiologie. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 303 ff.

Kruse, W., Allgemeine Mikrobiologie.

Winogradsky, S., Die Nitrifikation. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, B. 3, S. 132 ff.

Reinitzer, Fr., Über die Atmung der Pflanzen. Rektorsrede 1909. Hier eine neue Anschauung über die Atmung, die in das alte Problem derselben neue Gedanken bringt und damit den Pfad weist, diesem Lebensvorgang ohne Voreingenommenheit und unter Abstreifung althergebrachter Dogmen experimentell näher zu treten.

Was Reinitzer hier auf Grund rein chemisch-physikalischer Überlegung an der Hand der neueren Atmungsversuche anderer Forscher in bezug auf den Energiegewinn dieses Prozesses fordert, scheint gerade bei den Bakterien als einzellige Organismen in klarer Weise sich zu bewahrheiten. Deshalb verdienen die darin niedergelegten Gedanken die allgemeinste Beachtung und Würdigung.

Jost, L., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Jena 1904.

Czapek, F., Biochemie der Pflanzen. Jena 1905.

Treboux, O., Zur Stickstoffvermehrung der grünen Pflanze. Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch., Bd. 22, S. 570, 1904.

Prianischnikow, D., Über den Einfluß von Ammoniumsalzen auf die Aufnahme von Phosphorsäure bei höheren Pflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch., Bd. 23, S. 8, 1905.

Euler, H., Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie, I. Teil, Braunschweig 1908.

DREIZEHNTE VORLESUNG.

Physikalische und chemische Einflüsse auf das Bakterienwachstum. Sterilisation und Desinfektion.

Wir haben bereits eine Reihe von physikalischen Einflüssen kennen gelernt, die auf die Bewegung der Bakterien Einfluß haben und auf die dieselben mit Taxien antworten. Hier wollen wir uns mit der Wirkung physikalischer Einflüsse auf das Bakterienwachstum näher beschäftigen.

Da ist vor allem von größter Bedeutung die

Temperatur,

bei der die Kulturen gehalten werden. Auch hier können wir drei Kardinalpunkte festlegen: das Temperaturoptimum, bei welchem die maximale Vermehrung erfolgt, das Temperaturminimum, das ist die niederste Temperatur, bei der eben noch eine äußerst langsame Vermehrung statthat, und endlich das Temperaturmaximum, jene Höchsttemperatur, die gerade noch ein Wachstum zuläßt. Bezüglich dieser drei Kardinalpunkte kann man ganz allgemein sagen, daß ein Überschreiten nach unten hin in sehr weiten Grenzen erfolgen kann, ohne daß es zu einer Tötung der Zellen kommt, während schon wenige Grade betragende Erhöhungen der Temperatur über das Maximum dieselben sehr schwer schädigen und alsbald töten.

Für die einzelnen Bakterienarten liegen die Kardinalpunkte außerordentlich verschieden. Unter Zugrundelegung des Temperaturoptimums können wir trotzdem mit A. Fischer[1]) die Bakterien in drei große Gruppen einteilen:

„1. Das Optimum liegt bei Zimmer- oder Sommertemperatur (20—30°): alle bei uns im Freien lebenden proto- und metratrophen Bakterien.

„2. Das Optimum liegt bei Bruttemperatur (Bluttemperatur der Megathermen)." Hierher gehören die tierpathogenen Bakterienarten.

„3. Das Optimum liegt bei der Koagulationstemperatur mancher Eiweißkörper: die sonderbare Gruppe der thermophilen Bakterien."

Diese Gruppen sind durch eine Reihe von Zwischengliedern verbunden, so daß natürlich eine strenge Sonderung unmöglich erscheint.

1) Nach Fischer, Vorlesungen über Bakterien, S. 106. Jena 1903.

Außerdem müssen wir in Betracht ziehen, daß es Bakterien gibt, die ihr Optimum allerdings bei sehr hoher Temperatur, etwa 50° haben, die sich aber auch bei niedrigeren Temperaturen gut vermehren. Sie können wir mit Schillinger als thermotolerant bezeichnen zum Unterschied von den Orthothermophilen, die auch ein sehr hochliegendes Minimum aufweisen.

Vollständige Gegenstücke in bezug auf niedere Temperaturen finden wir nicht, da selbst die sogenannten psychrophilen Bakterien, die noch gut auch bei Temperaturen um 0° wachsen, dennoch ihr Optimum meist zwischen 10 und 15° C aufweisen. Wir können sie höchstens mit den thermotoleranten Bakterien in Analogie stellen und sie deshalb als psychrotolerant bezeichnen.

Einige Beispiele für die Temperaturweite von Bakterien gibt folgende kleine Zusammenstellung:

	Minimum	Optimum	Maximum
Bacterium oxydans	8° C	18—21° C	30—33° C
Bacterium acetosum	8° „	28° „	36° „
Pseudomonas photogena	0° „	16° „	26° „
Bacillus calfactor	30° „	60° „	70° „
Influenzabazillus	27° „	37° „	43° „

Versuchen wir die in der kleinen Tabelle niedergelegten Befunde bildlich darzustellen, so bekommen wir über die Temperatureinflüsse auf

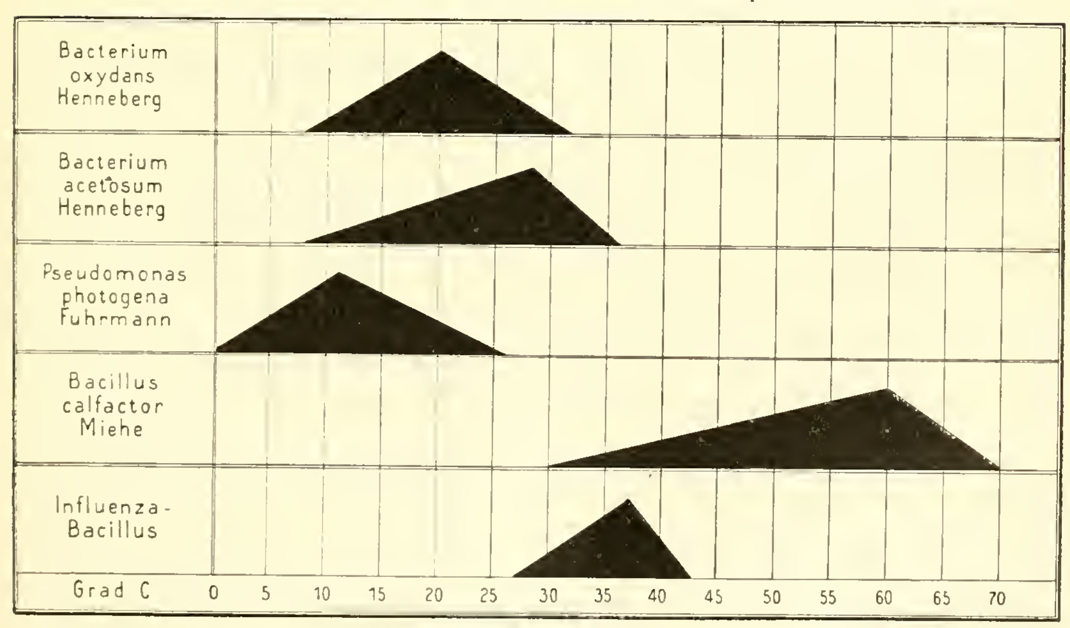


Fig. 63.

verschiedene Bakterien in bezug auf das Wachstum eine bessere Vorstellung. Unsere Abbildung 63 gibt diesen Versuch wieder. Die Spitze der schwarzen Dreiecke entspricht dem Temperaturoptimum, während an

deren Basis die Ecken links das Minimum und rechts das Maximum markieren. So sind die Wachstumstemperaturweiten der hier verzeichneten Arten gut kenntlich. Es handelt sich hier um ein Schema, da der Abfall vom Optimum zum Minimum und Maximum in der Wirklichkeit gewiß keiner Geraden entspricht, sondern einer krummen Linie. Auch sind hier die Wachstumsoptima willkürlich überall gleich gewählt, was eigentlich auch nicht der Fall ist.

Wenn wir die Untersuchungen über die Temperatureinwirkungen auf die Sporenkeimung und besonders Sporenbildung ausdehnen, dann erhalten wir wesentlich andere Minima, Optima und auch Maxima. Im allgemeinen ist die Temperaturweite enger und das Optimum etwas nach unten verschoben.

Wie schon angedeutet, schadet den Bakterien eine starke Abkühlung nicht wesentlich. Wir können tief unter das Minimum herabgehen, ohne daß die Zellen absterben. Wir können Bakterien selbst 20 Stunden einer Temperatur von — 172 bis — 190° aussetzen, ohne daß sie irgendwie geschädigt werden. Milchbakterien sollen nach Macfadyen und Rowland sogar einen einwöchentlichen Aufenthalt in flüssiger Luft schadlos überdauern. Selbst eine 10 stündige Abkühlung in flüssigem Wasserstoff, also bei — 252° C, konnte diese Mikroorganismen nicht vernichten. Dasselbe gilt natürlich in noch größerem Umfange für die Sporen der Bakterien.

Wesentlich empfindlicher sind im allgemeinen Bakterien gegen Temperaturen, die über dem Maximum liegen. Es herrscht ein großer Unterschied zwischen der Resistenz der vegetativen Bakterienformen gegen Hitze und der Widerstandsfähigkeit der Sporen. Im allgemeinen führen kurzdauernde Temperaturerhöhungen von 10—15 Graden über das Maximum bei ersteren den Tod derselben herbei, während letztere hoch über die Koagulationstemperatur längere Zeit hindurch ohne Schädigung erhitzt werden können. Es ist dabei auch von größter Bedeutung, ob die Zellen in trockenem oder feuchtem Zustande der Hitze ausgesetzt werden. Im ersteren Falle werden sie im allgemeinen höhere Temperaturen ertragen als durchfeuchtet. Dies gilt auch vollauf für die Sporen.

In Flüssigkeiten, die frei von Säure oder Alkali sind, genügt eine Erwärmung auf 60—70° C durch 30 Minuten sicher, um alle vegetativen Bakterienzellen zu vernichten. Viel widerstandsfähiger sind die Sporen der Bakterien. Man muß viel höhere Temperaturen verwenden. So hat Blau für eine Reihe von Sporen die Tötungszeit bei Anwendung von 100° in Wasser ermittelt. Einige Daten seien daraus hier wiedergegeben.

	Tötungszeit in Minuten
Bacillus Ellenbachensis	2—2½
Bacillus cohärens	5—5½
Bacillus asterosporus	7—7½
Bacillus megatherium	15—16
Bacillus subtilis	175—180
Bacillus calidus	450—480 = 7½—8 Stunden
Bacillus tostus	1140—1200 = 19—20 Stunden

Wir entnehmen aus dieser kleinen Zusammenstellung, daß die Tötungszeit für die Sporen der einzelnen Bakterienarten bei 100° sehr verschieden ist, die Resistenz der Sporen aber außerordentlich groß sein

kann, wie beim Bacillus tostus. Allerdings sind die beiden letztgenannten Arten thermophile Erdbakterien.

Die Tötungszeit wird nun durch Anwendung höherer Temperaturen, wie im gespannten Wasserdampf, bedeutend verkürzt, wovon man in der Praxis immer Gebrauch macht.

Galvanische und statische **Elektrizität** scheint an sich keine Wirkung auf das Bakterienwachstum zu äußern, sofern Vorsorge getroffen ist, daß durch den Strom einerseits keine Erwärmung der Bakterienkultur eintritt und andererseits elektrolytische Umsetzungen im Nährsubstrat ausgeschlossen sind. Besonders die bei der Elektrolyse gebildeten Produkte töten die Mikroben in kurzer Zeit, was natürlich eine unmittelbare Beeinflussung durch den elektrischen Strom vortäuschen kann. Auch in dem Nährboden induzierte Ströme scheinen keinen bemerkenswerten Einfluß auf das Wachstum auszuüben.

Über die Wirkung der **Röntgenstrahlen** auf Bakterien gehen die Meinungen der Forscher stark auseinander. Während die einen ihnen für Mikroorganismen besonders deletäre Eigenschaften zusprechen, wollen die anderen höchstens sehr geringe Schädigungen wahrgenommen haben. Übrigens stehen eingehende und erschöpfende Versuche darüber noch aus. Hier scheint wie beim elektrischen Strom ebenfalls eine Wirkung auf die Zusammensetzung des Nährsubstrates stattzufinden, die in erster Linie für die beobachteten Schädigungen vielleicht verantwortlich gemacht werden kann. Ihnen selbst scheint eine besondere, vernichtende Kraft für Mikroben kaum innezuwohnen.

Auch die mit **Becquerelstrahlen** angestellten Versuche haben ergeben, daß sie keine nennenswerten bakterientötenden Eigenschaften besitzen, da selbst durch 2—4 stündige Bestrahlungen von Kulturen des Bacillus prodigiosus nur das Wachstum gehemmt wurde, ohne daß es zu einer Vernichtung der Zellen gekommen ist.

Über die Wirkung der **Radiumstrahlen** auf Bakterien wissen wir nicht sehr viel. Nach den weniger einwandfreien Versuchen scheinen sie allerdings schädigend auf dieselben zu wirken, jedenfalls aber viel weniger als auf die tierische Zelle.

Den **Lichtstrahlen** gegenüber verhalten sich die Bakterien sehr verschieden. Viele von ihnen werden durch unmittelbare Sonnenbestrahlung oder durch elektrisches Bogenlicht in kurzer Zeit getötet, während andere dagegen sehr widerstandsfähig sind. Besonders empfindlich erweisen sich die sonst so resistenten Sporen.

Dem Licht gegenüber nehmen die Purpurbakterien eine Ausnahmestellung ein, indem sie dasselbe im Stoffwechsel offenbar verwerten. Nach Molisch soll es sich dabei um eine neue Art von Photosynthese handeln, „bei der **organische** Substanz im Lichte assimiliert wird". Für diese Bakterien ist die Lichtbestrahlung also günstig, wenn sie auch nicht notwendig ist, da Purpurbakterien auch im Finstern wachsen.

Es wirken nun keineswegs alle Lichtstrahlen, die das Sonnenlicht zusammensetzen, gleich. Besonders schädigend erweisen sich die sichtbaren kurzwelligen Strahlen, blau, violett und das unsichtbare Ultraviolett. Mit der Kürze der Wellenlänge nimmt die Vernichtungskraft der Strahlen zu, so daß gerade die ultravioletten Strahlen die wirksamsten sind. Dabei ist nur zu beachten, daß die Gläser die kurzwelligen Strahlen sehr stark und die wirksamsten ganz verschlucken, weshalb einwandfreie Versuche

nur in Quarzgefäßen oder offen angestellt werden können. Auch hier findet eine Einwirkung auf das Nährsubstrat selbst statt, da meistens auf dem vor der Einsaat belichteten Nährboden nichts mehr wächst.

Hinsichtlich der Wirkung der ultravioletten Strahlen sei noch bemerkt, daß für ihre Wirksamkeit auch ihre Herkunft wesentlich ist. Eigentlich ist dies nach dem oben Gesagten selbstverständlich, da die Wellenlänge derselben nach der Erzeugungsart verschieden ist. Tassily und Cambier erzeugten wirksame kurzwellige Strahlen durch in Stickoxyd brennenden Schwefelkohlenstoff, die sich ebenfalls als bakterientötend erwiesen, aber weniger stark als beispielsweise die von der Quecksilberdampflampe ausgehenden. Messungen der Wellenlänge haben ergeben, daß erstere eine solche zwischen 340—490 $\mu\mu$ besaßen, während letztere 302—303 $\mu\mu$ hatten. Die stärkste keimtötende Kraft sollen übrigens Strahlen von nur 280 $\mu\mu$ und darunter aufweisen. Die große Vernichtungskraft der ultravioletten Strahlen geht auch aus Versuchen hervor, Wasser durch dieselben zu entkeimen.

Durch gleichzeitig vorhandene fluoreszierende Stoffe wird bei den Bakterien nur eine geringe Verstärkung der Lichtwirkung hervorgebracht, so daß also die photodynamische Wirkung in diesem Falle unwesentlich ist, während sie bei tierischen Protozoën recht bedeutend ist.

Man hat weiter versucht, durch **hohe Drucke** Bakterien zu vernichten. Dabei hat es sich herausgestellt, daß die Mikroben durch dieselben nur sehr wenig geschädigt werden, wenn die Versuchsdauer keine allzulange war. Man hat ja auch unter den in der Natur freilebenden Bakterien zahlreiche Beispiele, wo Mikroben dauernd unter sehr hohem Drucke leben. So wurde die Tatsache festgestellt, daß sich im Schlamme des mittelländischen Meeres bis zu Tiefen von 1100 m noch eine üppige Bakterienflora findet. Allerdings herrschen in diesem Meere auch noch in solchen Tiefen günstige Temperaturbedingungen, da das Wasser noch immer 13° C aufweist. Daß in anderen Meeren in dieser Tiefe Bakterien spärlich zu finden sind, hat wohl weniger seinen Grund in dem herrschenden Drucke als vielmehr in der zu niedrigen Temperatur. Aber auch aus den Laboratoriumsversuchen geht hervor, daß höchstens abnorm hohe Drucke von etwa 3000 kg auf den Quadratzentimeter bei längerer Versuchsdauer sicher schädigend wirken, während einige hundert Atmosphären noch nicht schädigen, sofern nicht besondere Verhältnisse geschaffen werden. Natürlich werden sauerstoffscheue Organismen dann getötet, wenn ihre Kultur in reinem Sauerstoff hohen Drucken ausgesetzt wird. Hier wirkt übrigens nicht der Druck an sich, sondern die dadurch geschaffene Sauerstoffkonzentration, denn bei der Verwendung anderer Gase, wie Kohlensäure oder Wasserstoff, fällt der Versuch wesentlich anders aus. Erstere scheint auch unter hohem Druck angewendet, kaum keimtötende Eigenschaften zu besitzen. Verminderter Druck schädigt die Bakterien an sich auch nicht, sofern dadurch nicht eine allzugroße Verdünnung des Sauerstoffes bei luftliebenden Mikroben herbeigeführt wird.

Hinsichtlich der Wirkung von **Erschütterungen** lassen sich allgemeine Angaben nicht machen, da sich diesen gegenüber die Bakterien sehr verschieden verhalten. Man kann vielleicht mit einiger Vorsicht nur sagen, daß grobe, fortgesetzte Erschütterungen zu einem Wachstumsstillstand und schließlich zum Tode der Bakterien führen, während feine, geringe Erschütterungen günstig einwirken. Dies gilt vornehmlich für die

in flüssigen Nährsubstraten wachsenden Bakterien, während die Wirkungen auf die in festen Nährböden gezüchteten Mikroben gering sind. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich dabei um rein mechanische Vorgänge, wie aneinanderstoßen und reiben der Zellen, was eine Schädigung mit der Zeit herbeiführt. Die günstige Wirkung geringer Erschütterungen und Bewegungen ist sicherlich zum Teil auch auf die ständige Durchmischung und, wenn auch nur minimale Durchlüftung des Nährbodens zurückzuführen. Die einzelnen Bakterienarten erweisen sich gegen diese mechanischen Einflüsse sehr verschieden, denn einige sind dafür sehr empfindlich, wie z. B. der Bacillus megatherium, der schon durch längerdauernde schwache Erschütterung vernichtet wird, während andere sich als sehr resistent erweisen. Zur letzteren Kategorie gehören vornehmlich Wasserbakterien, wie der Bacillus fluorescens liquefaciens. Dieselben sind ja auch an ihren natürlichen Standorten ständigen Bewegungen ausgesetzt, was ganz besonders bei den in fließenden Wasser wohnenden zutrifft. Jedenfalls ist auf die Möglichkeit der Schädigung von Bakterien bei der Anlage von Laboratorien in Fabriken Bedacht zu nehmen und sind dafür erschütterungsfreie Lokale auszuwählen.

Damit haben wir die wichtigsten Wirkungen physikalischer Einflüsse kennen gelernt und wenden uns nunmehr den **chemischen Einflüssen** zu. Wir haben die Wirkung von sehr geringen Säure- und Alkalimengen auf die Ernährung schon kurz erwähnt und dabei auch drei Kardinalpunkte aufgestellt, ein Optimum, Maximum und Minimum. Das gleiche haben wir für den Sauerstoff auch schon getan, sowohl für die Vermehrung als auch für die Sporulation. Hier wollen wir uns der Wirkung von Stoffen zuwenden, die auf die Bakterienzellen tötend, wachstumshemmend und schädigend wirken und höchstens in außerordentlich starken Verdünnungen unschädlich oder sogar entwicklungsfördernd sind. Solche Stoffe bezeichnen wir ganz allgemein als Gifte, ohne über die Art und Weise ihrer Wirkung etwas näheres sicher zu wissen. Nach Loew beruht übrigens die Giftwirkung auf der Labilität der Eiweißmoleküle der lebenden Substanz, in der sich ständige Atomumlagerungen abspielen, die eben durch eine Reihe von Stoffen, die Gifte, gehemmt werden. Mit dem Übergang in einen stabilen Zustand erlischt auch das Leben. Die Schwermetallsalze wirken sicher in der Weise, daß sie mit dem labilen Eiweißkörper stabile Verbindungen, Fällungen, eingehen, sofern sie in das Zellinnere zum Plasma gelangen können. Die Möglichkeit des Eindringens von Giften in die Zelle ist durch die Durchlässigkeit der äußeren Plasmagrenzschicht für dieselben bedingt. Nach Overton sollen übrigens nur jene Körper in die Zelle gelangen können, die in Lipoiden, wie Lezithin usf., löslich sind. Sollen andere Stoffe hineinkommen, muß erst eine entsprechende Veränderung der Durchlässigkeit herbeigeführt werden, was an sich schon zum Tode der Zelle führen kann. Wir hätten sonach eine zweite Art des Mechanismus der Giftwirkung, die in einer schweren Störung der normalen Durchlässigkeit des Plasmas liegt. Doch dies sind vorläufig Annahmen, die noch der Bestätigung harren. Jedenfalls müssen wir uns vor Verallgemeinerungen hüten, da die verschiedensten Verhältnisse bei den einzelnen Bakterienarten vorliegen können.

Den Giften gegenüber verhalten sich die einzelnen Bakterienarten verschieden resistent. Die Widerstandsfähigkeit ein und derselben Art

ist auch verschieden und abhängig von dem Entwicklungszustand und der Ernährung der einzelnen Zellen. Im allgemeinen sind die jüngsten und sehr alte am empfindlichsten. Dies gilt besonders für das aus der Spore austretende Keimstäbchen. Sehr unempfindlich für chemische Einflüsse ist dagegen die Spore. Bei ihr nimmt die Widerstandskraft mit dem Alter ab, besonders wenn sie in der Wärme aufbewahrt wird.

Bis zu einem gewissen Grade kann durch fortgesetzte Verimpfung eine Bakterienart an schädigende chemische Einflüsse, Gifte, gewöhnt werden, ohne daß diese Eigenschaft aber dauernd erhalten bliebe und vererbt würde.

Den Zellen gegenüber können die verschiedensten Stoffe als Gifte auftreten, ja wir können soweit gehen, und sagen, daß alle Nahrungsstoffe, Ausscheidungs- und Spaltungsprodukte zu Giften werden, wenn sie im allgemeinen in zu hohen Konzentrationen in den Kulturen vorkommen. Die Konzentration, bei welcher sozusagen alle löslichen Körper als Gifte wirken, ist aber sehr verschieden.

Wir wollen in erster Linie jene Stoffe vorerst allgemein kurz behandeln, die noch in großen Verdünnungen als Gifte wirken und insofern eine große Rolle in der Desinfektionspraxis spielen. Es hat sich nun ganz allgemein gezeigt, daß der Lösungszustand des Giftes für die Giftwirkung von allergrößter Bedeutung ist. Damit ist auch sofort ein Unterschied der Wirkung von Elektrolyten und Nichtelektrolyten aufgerollt. Wir wissen, daß nach der Dissoziationstheorie von Arrhenius schon bei der Lösung auch ohne Zutun des elektrischen Stromes eine gewisse Anzahl von Molekülen des gelösten Stoffes, sofern es sich um Elektrolyte handelt, in kleinere Teile, Ionen, zerfallen. Die Lösung enthält somit neben kompletten Molekülen noch elektropositive Kationen (Metall) und elektronegative Anionen. Säurelösungen müssen dementsprechend neben den Säuremolekülen noch als Kation Wasserstoffionen enthalten und Laugen Hydroxylionen als Anion. Diese Dissoziation ist verschieden bei den einzelnen Elektrolyten und abhängig von der Konzentration und dem Lösungsmittel. Im allgemeinen wächst die Anzahl der Ionen mit der Abnahme der Konzentration, also der Verdünnung der Lösung. Die Giftwirkung müssen wir nun auf die Wirkung der Ionen im Verein mit derjenigen der Moleküle zurückführen. Wollte man darin eine ausschließliche Ionenreaktion erblicken, so müßte man immerhin den Diffusionsverhältnissen und den in der Zelle eintretenden Umsetzungen der giftigen Ionen bei der Erklärung Rechnung tragen. Außerdem darf nicht außer Acht gelassen werden, ob die Giftwirkung der Ionen ein katalytischer Vorgang ist, der also nicht zu einem Verbrauch derselben führt oder ob chemische Bindungen eintreten, wodurch Ionen aus der Lösung ausgeschaltet werden. In letzterem Falle werden die weniger dissoziierten Lösungen heftiger giftig wirken, da an Ort und Stelle entsprechend dem Verschwinden und dem Verbrauch der Ionen sofort aus den unzerlegten Molekülen neue entstehen, also nicht erst von außen zuwandern müssen.

Auf die Giftwirkung der Elektrolyten wirken aber auch Zusätze von Salzen ein, die selbst wieder dissoziiert werden. Liefern sie dabei ein gleiches Ion, wie z. B. Natriumchlorid + Quecksilberchlorid, so wird die Dissoziation vermindert und damit die Giftwirkung herabgesetzt.

Auch Zusätze von Neutralsalzen verändern die Giftwirkung. Die bezüglichen Versuche haben ergeben, daß alle Neutralsalze, welche in größeren Mengen zugefügt, eine Aussalzung des Giftes herbeiführen, in kleineren Dosen dazugegeben, eine Verstärkung der Giftwirkung auslösen. Eine Erklärung dafür gibt das Gesetz von der Verteilung eines Stoffes in mehreren gleichzeitig vorhandenen Lösungsmitteln. Es wird das Gift sozusagen in größeren Mengen in das Protoplasma eindringen und es rasch vernichten, wenn außen die Löslichkeit abnimmt.

Die Giftwirkung komplexer Salze geht ebenfalls auf ihre Dissoziation zurück. Dabei entstehen aber nicht Kationen eines einfachen Metalles, sondern komplexe Ionen, wie folgendes Beispiel zeigt:

Kaliumquecksilberjodid dissoziiert in

K^{+} und HgJ_4^{-}

Das Ion HgJ_4 dissoziiert teilweise auch in Hg^{+} und Jod, so daß in diesem Falle allerdings auch Quecksilberkationen frei vorhanden sind, jedoch nur in sehr spärlicher Menge, weshalb das Kaliumquecksilberjodid nur wenig giftig wirkt im Vergleich zum Quecksilberchlorid.

Wenn wir zusammenfassend kurz die Giftwirkung der verschiedenen organischen und anorganischen Stoffe in ihrer Abhängigkeit vom Lösungsmittel und der Dissoziation überblicken, so können wir die Gifte selbst mit Spiro und Scheurlen in zwei Klassen einteilen, in solche, die hauptsächlich durch ihre Ionen wirken („Desinfizientien erster Ordnung") und in solche, die in erster Linie durch das komplette Molekül wirken („Desinfizientien zweiter Ordnung"). Ein Beispiel für die zweite Klasse ist das Phenol, das überhaupt nur sehr wenig in die Ionen H und C_6H_5O dissoziiert wird.

Wir haben schon festgestellt, daß die Dissoziation der Gifte der ersten Klasse in der Lösung für ihre Wirkung von einschneidender Bedeutung ist. In der Tat sind Lösungen derselben in starkem Alkohol, wo keine Dissoziation eintritt, ungiftig. Bei Verwendung von verdünntem Alkohol liegt die Sache allerdings anders, da häufig die Giftigkeit in diesem Falle steigt. Es dürften in diesem Falle durch den Alkohol die Diffusionsverhältnisse der Zelle eine Störung erfahren.

Von den physikalischen und chemischen Einflüssen auf das Leben der Mikroben macht die moderne Mykologie in vielen Fällen Gebrauch. Grundlegend für alles zielbewußte Arbeiten auf gärungsphysiologischen Gebieten ist demnach die

Sterilisation.

Wir verstehen unter „sterilisieren" die Vernichtung aller in irgend einem Substrat oder auf irgend einem Körper vorhandenen Kleinlebewesen. Der Körper oder das Substrat ist dann „steril" oder frei von lebenden Organismen. Wir erreichen dies durch eine Reihe physikalischer und chemischer Maßnahmen, weshalb wir auch von physikalischer und chemischer Sterilisation sprechen können. Zunächst sei auf die physikalische Sterilisation näher eingegangen. Wir haben bereits gehört, daß eine Entwicklung von Bakterien nur innerhalb verhältnismäßig enger Temperaturgrenzen möglich ist. Wenn wir die Temperatur über das „Maximum" erhöhen, so werden nach längerer oder kürzerer Zeit die Mikroben vernichtet. Wir haben also in der Hitze ein ausgezeichnetes Sterilisationsmittel. Dieselbe kann als trockene Wärme oder als feuchte Wärme angewendet werden. Da für letztere alle

Mikroorganismen empfindlicher sind, wird man letztere Form der Sterilisation bevorzugen. In letzter Linie wird für die Wahl der trockenen oder feuchten Hitze die Beschaffenheit des Substrates, das sterilisiert werden soll, ausschlaggebend sein.

Bei der Sterilisation in der trockenen Wärme werden die Substrate mit Luft von 150—160° C ein bis zwei Stunden erhitzt. Dies geschieht in besonderen Schränken, den „Heißluftsterilisatoren". Dieser Behandlung können nur feste trockene Körper, Glas, Metalle usw., ausgesetzt werden.

Die Sterilisation durch feuchte Wärme wird entweder mit strömendem Dampf von der Temperatur des bei gewöhnlichem Luftdruck siedenden Wassers oder mit erhitztem Wasserdampf durchgeführt. Endlich sind hierher noch langedauernde Erwärmungen von Flüssigkeiten auf 65—75° zum Behufe der Entkeimung zu rechnen, die man kurzweg als Pasteurisation bezeichnet.

Im strömenden Dampf von der Temperatur des siedenden Wassers werden alle vegetativen Bakterienzellen sicher in einer Viertelstunde vernichtet, nicht aber die Sporen, von denen ja bekanntlich einige sogar vielstündiges Kochen ertragen. Um nun die Substrate durch allzulanges kochen nicht selbst zu verändern, sterilisiert man gewöhnlich in diesem Falle diskontinuierlich. Es werden dabei die Substrate jedesmal nur kurze Zeit aber öfter hintereinander erhitzt. Bei der ersten, 15 Minuten währenden Erhitzung werden alle Oidien zerstört, während noch zahlreiche Sporen lebend geblieben sein können. In den nun folgenden 24 Stunden keimen die meisten der letzteren und die nach dieser Zeit vorgenommene Erwärmung vernichtet die jungen Keimstäbchen und vegetativen Zellen. Eventuell noch vorhandene Sporen keimen sicher in den nun folgenden 24 Stunden, nach deren Verlauf noch ein drittes Mal durch 15 Minuten erhitzt wird. Jetzt sind sicher die letzten jungen vegetativen Zellen getötet und da keine Sporen mehr vorhanden sind, das Substrat steril. Auf diese Weise entkeimt man die meisten in der Mykologie verwendeten Nährsubstrate, da diese kurzen Erhitzungen kaum eine Veränderung derselben herbeiführen.

Wir haben aber auch extrem widerstandsfähige Sporen von Erdbakterien kennen gelernt, die durch einmalige, selbst sehr langedauernde Erhitzung im strömenden Dampf nicht vernichtet werden. Um sie in innerhalb weniger Minuten sicher zu töten, bedient man sich des **erhitzten Wasserdampfes.**

In sog. „Autoklaven" wird Wasser unter erhöhtem Druck kochen gelassen, wobei der Dampf entsprechend dem herrschenden Drucke Temperaturen über 100° aufweist. In demselbon werden selbst die dauerhaftesten Sporen rasch getötet, wie folgendes Beispiel[1]) zeigt:

Die Sporen von Erdbakterien wurden bei verschiedenen Temperaturen sterilisiert, wozu folgende Erhitzungszeiten nötig waren:

bei 100° 16 Stunden
„ 115° 30—60 Minuten
„ 130° 5 Minuten
„ 140° 1 Minute.

1) Zitiert nach A. Fischer, Vorlesungen über Bakterien, S. 109. Jena 1903.

Leider können diese hohen Temperaturen in der Praxis seltener verwendet werden, da durch ihre Anwendung meist eine tiefgehende Veränderung in der Zusammensetzung der Substrate herbeigeführt wird.

Wie schon gesagt werden beim „**Pasteurisieren**", der zuletzt genannten Sterilisierungsmethode, durch feuchte Wärme nur niedere, zwischen 55 und 70° C liegende Temperaturen lange Zeit hindurch angewendet. Dabei sterben nur die vegetativen Zellen ab. Durch diskontinuierliches Pasteurisieren kann analog der diskontinuierlichen Sterilisation im strömenden Dampf, ebenfalls eine vollständige Entkeimung des Substrates erreicht werden. Anwendung findet dieses Verfahren nur auf Mikroorganismen, die sich in Flüssigkeiten befinden. Es tritt dabei kaum eine Veränderung der Substrate selbst ein, was besonders bei der Herstellung steriler Eiweißlösungen wichtig ist; letztere würden ja im strömenden Dampf koagulieren.

Bei den Methoden der Dampfsterilisation werden nicht nur die Bakterien, überhaupt Mikroorganismen getötet, sondern auch ihre Enzyme vernichtet. Letzteres findet bei der Pasteurisation nur in beschränktem Maße statt, weshalb eine nachträgliche Veränderung der Flüssigkeiten durch dieselben immerhin möglich ist.

Von einer Besprechung der Sterilisation durch heftiges Schütteln können wir füglich absehen, da dieses Verfahren keine Bedeutung für die Praxis besitzt.

Anders ist es mit der **Sterilisation durch ultraviolettes Licht**, das immerhin eine Rolle in der Praxis zu spielen berufen erscheint. Vorläufig sind es wohl die großen Kosten, die einer weiteren Ausnutzung des Verfahrens hinderlich im Wege stehen. Im übrigen ist es recht einfach, da ja nur eine Bestrahlung mit den kurzwelligen Strahlen vorgenommen wird. Es eignet sich vornehmlich zur Keimfreimachung von Wasser im großen. Weniger brauchbar ist es für die Sterilisation von Nährsubstraten, da infolge der großen chemischen Wirkung der ultravioletten Strahlen auch andere unerwünschte Umsetzungen in denselben hervorgerufen werden können.

Wir können auch durch **Filtration** sterilisieren. Hier findet allerdings keine Vernichtung der Mikroorganismen im betreffenden Substrat statt, sondern nur eine vollkommene Ausschaltung derselben. Wir haben nur nötig, Filter mit so engen Poren zu verwenden, daß selbst die kleinsten Mikroorganismen nicht mehr hindurchgehen. Solche Filter werden aus Porzellan, Kieselgur oder Asbest hergestellt. Für Luft und Gase überhaupt genügt Watte in mehreren Lagen. Für Laboratoriumszwecke kommen in erster Linie die sog. Chamberlandschen Kerzen aus Porzellan und die Berkefeld-Filter aus Kieselgur in Betracht. Um einen raschen Durchtritt der Flüssigkeit zu erhalten, arbeitet man immer unter Druck, indem man entweder die Flüssigkeit durch Pumpen hindurchdrückt oder aber die Kerze in einem luftverdünnten Raum anbringt, so daß infolge des negativen Druckes die zu filtrierende Lösung hindurchgesaugt wird. Letztere Anordnung ist wohl die einfachste und billigste, weshalb sie fast immer benutzt wird. Außerdem läßt sie sich sehr leicht reinigen. In Figur 64 ist eine solche Zusammenstellung im Schnitt wiedergegeben. Selbstverständlich muß das Filtrat in ein vorher innen sterilisiertes Gefäß aufgefangen werden. Auch alle Verbindungsrohre müssen innen ebenfalls keimfrei sein. Dort, wo die Saugpumpenleitung angelegt ist, befindet sich ein

steriles Wattefilter, welches ein nachheriges Eindringen von Luftkeimen bei der Entnahme und Aufbewahrung des Filtrates verhindert. Vor dem Gebrauch sterilisiert man die Auffangflasche samt dem daran montierten Porzellan- und Wattefilter im strömenden Dampf, da die Verwendung der trockenen Hitze wegen der Kautschukverbindungen unstatthaft ist. Bei dieser Sterilisationsmethode ist immer zu bedenken, daß die Porzellanfilter und auch die Berkefeld-Filter außer den Bakterien noch andere in Scheinlösung befindliche Stoffe zurückhalten können, was gewiß nicht erwünscht ist. Außerdem enthalten die Filtrate die meisten in die Flüssigkeit übergegangenen Enzyme der Mikroben, weshalb man die keimfreie Filtration besonders zur Gewinnung steriler Enzymlösungen benutzt.

Wie schon oben angedeutet, werden Gase, also auch Luft am besten mit Wattefilter entkeimt. Im Laboratorium schützen wir alle in Flaschen aufbewahrten, sterilen Substanzen durch eingesetzte Watteverschlüsse, die mit dem Inhalt mitsterilisiert werden. Im großen verhütet man Infektionen von Gärkellern durch Luftkeime ebenfalls durch Verschließen der Lüftungsöffnungen mit mehreren Wattelagen. Überhaupt ist die Verhütung der unbeabsichtigten Infektion eines sterilen Substrates eine Hauptaufgabe des Mykologen, die er mit Watte klaglos zu lösen imstande ist. Allerdings haben die Watteverschlüsse bei der Aufbewahrung von sterilen Flüssigkeiten den großen Nachteil, daß eine erhebliche Verdunstung eintritt, wodurch sehr beträchtliche Konzentrationsänderungen herbeigeführt werden. In vielen Fällen hilft hier eine über den Wattepfropf gesteckte Staniolkapsel. Unter ihr keimen aber oft auf die Watte gefallene Schimmelsporen, da dieselbe wegen des Staniolverschlusses von Innen her durchfeuchtet wird. Die Hyphen der Schimmelpilze durchwachsen sehr leicht den Watteverschluß, bilden, unten angelangt, Sporen, die in die sterile Flüssigkeit fallen; auf diese Weise infizierte Nährsubstrate verderben natürlich in kürzester Zeit.

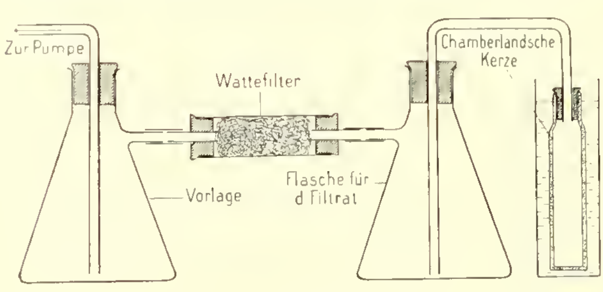


Fig. 64.

Aus dem Grund war man bemüht, andere keimdichte Verschlüsse zu erfinden. Sehr gut bewährt sich der Gummikappenverschluß nach Stutzer, der in Fig. 65[1]) abgebildet ist. Links sehen wir die Kautschukkappe mit dem oben befindlichen Schlitzventil *c* vor der Sterilisation, rechts dieselbe in eingedrücktem Zustande nach dem Dämpfen, wobei der Schlitz infolge des äußeren Luftdruckes beim Auskühlen des Inhaltes vollständig geschlossen wird.

Ausgezeichnet eignen sich für die Vorratsherstellung von Nährsubstraten im Laboratorium auch die Wekschen Konservenflaschen, bei denen auf den eben geschliffenen Flaschenrand ein breiter Kautschuk-

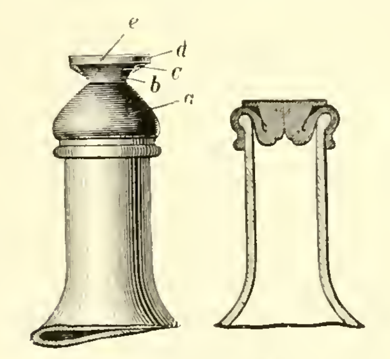
1) Diese Abbildung ist dem Handbuche der technischen Mykologie von Lafar, Bd. I, entnommen.

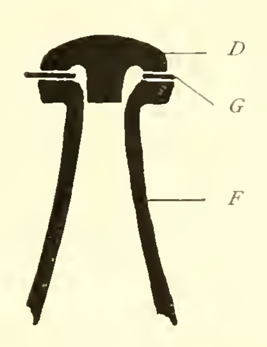
ring kommt, auf den wieder ein breitgeränderter Glasstopfen aufgelegt wird. Wir sehen im Schnitt die Anordnung in Fig. 66 abgebildet. Beim Sterilisieren entwickelt sich über der Flüssigkeit im Innern der Flasche Wasserdampf, der die Luft verdrängt. Bei Abkühlen kondensiert sich derselbe, wodurch ein luftverdünnter Raum in der Flasche entsteht. Durch den Atmosphärendruck wird dann der Glasstopfen *D* auf den Ring *G* und dieser auf den Rand des Flaschenhalses *F* gepreßt, wodurch ein vollstängig dichter Verschluß entsteht.

Für die Praxis von größter Bedeutung ist auch die Sterilisation durch chemische Mittel oder Gifte, die man kurzweg auch bezeichnen kann als

chemische Desinfektion.

Dazu dienen eine große Anzahl organischer und anorganischer Stoffe, die man zusammenfassend Antiseptika benennt. Von einem Antiseptikum verlangen wir, daß es in möglichst kurzer Zeit und in großen Verdünnungen auch die widerstandsfähigsten Sporen tötet und dabei keine Nebenwirkungen besitzt, die dessen Gebrauch im täglichen Leben gefährlich machen. Es soll also für die Kleinlebewesen außerordentlich giftig sein, für den höheren





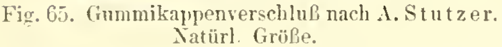

Fig. 65. Gummikappenverschluß nach A. Stutzer. Natürl. Größe.

Fig. 66.

Organismus aber möglichst unschädlich. Diese Forderung ist nicht erfüllbar, denn jedes auf Bakterien wirkende Gift äußert seine Wirkung auch auf die Zelle des Metazoons. Allerdings sind die Wirkungen nicht gleich groß: Der relative Giftwert, das ist das Verhältnis der kleinsten für ein Tier von einem gewissen Körpergewicht noch tödlichen Dosis Gift und derjenigen Menge Gift, die in einer ebenso schweren Kultur von Bakterien dieselben eben vernichtet, fällt wohl bei den meisten Desinfektionsmitteln zu Ungunsten der höheren Organismen aus, da sie dafür viel empfindlicher sind als die Bakterien. So wirken nach Behring Quecksilbersalze in einer Menge von 1 Teil auf 60000 Teile Tierkörper tödlich, während sie erst in einer Konzentration 1:10000 Teile Blutserum die darin befindlichen Anthraxbakterien am Wachstum hindern. Es gilt der Satz vollauf, daß es ein für das Tier unschädliches Antiseptikum nicht gibt.

Zur Beurteilung eines Desinfektionsmittel ist es notwendig, zu wissen:

1. Welche Konzentration desselben in einem bestimmten Nährmittel genügt, beim Temperaturoptimum eine Bakterienart am Wachstum und in der Vermehrung zu hindern. Diese Größe gibt uns den Hemmungswert desselben.

2. Welches ist die kürzeste Zeit, in welcher bei niederer, noch praktisch gut verwertbarer Konzentration eine Vernichtung sporenfreier Bakterien bei Zimmertemperatur in Wasser erfolgt. Wir erhalten so den kleinen Giftwert.

3. Die kürzeste Zeit, nach der bei einer brauchbar niedrigen Konzentration auch die Sporen einer Bakterienart bei Zimmertemperatur abgetöt werden. Es gibt dies den großen Giftwert.

Diese Werte sind aber nur relative Größen, da sie wachsen und fallen nach der verwendeten Bakterienart, ihrem Alter, ihren Züchtungsbedingungen und der Menge der eingebrachten Zellen. Darüber müssen ebenfalls Angaben vorliegen, wenn brauchbare Ergebnisse erreicht und Desinfektionsmittel untereinander verglichen werden sollen.

Wir können nun die Desinfektionsmittel in mineralische und organische gruppieren. Ausgenommen die Bakterienantitoxine, die im Tierkörper produziert werden, und spezifisch außerordentlich giftig auf Bakterien einwirken, sind die mineralischen Desinfektionsmittel die wirksameren. Einige von ihnen seien hier aufgeführt. Alle starken Säuren und Alkalien in höheren Konzentrationen wirken sehr heftig, doch stehen ihrer Verwendung die unangenehmen Nebenwirkungen im Wege. In Frage kommt eigentlich nur die schweflige Säure (SO_2) in freiem und gebundenem Zustande. Uralt ist der Brauch des Einschwefelns von Fässern und Bottichen, die bei der Wein- und Bierbereitung verwendet werden. Hier wird Schwefel in dem Gefäß zu Schwefeldioxyd verbrannt. Im Brauereigewerbe schwefelt man auch den Hopfen und sogar das Malz, um Bakterien auszuschalten, die gegen schweflige Säure viel empfindlicher sind als die Hefen. Weiter dient doppeltschwefligsaures Kalzium [$Ca(HSO_3)_2$] in wässeriger Lösung mit einem Gehalte von ca. 10 g Schwefeldioxyd im Liter häufig als brauchbares Desinfiziens für Gärbottiche und dergleichen. Auch das schwefligsaure Natron findet in der Konservierungspraxis für Fleisch Anwendung, sofern eine solche gesetzlich nicht verboten ist.

Kohlensäure ist ein sehr minderwertiges Desinfektionsmittel, wenn auch seine das Bakterienwachstum hemmende Eigenschaft besonders unter hohem Druck nicht geleugnet werden kann. Kohlendioxyd kann also höchstens für Konservierungszwecke Anwendung finden, nicht aber zur Sterilisation.

Wohl die kräftigsten Desinfektionsmittel anorganischer Natur sind Quecksilber- und Silbersalze. Auch die anderen Edelmetalle würden ausgezeichnete Antiseptika abgeben, wenn ihr hoher Preis nicht ein Hindernis wäre. Deshalb kommen sie für die Praxis nicht in Betracht.

Von den Quecksilberverbindungen besitzt das Quecksilberchlorid (Sublimat) die größte Desinfektionskraft. Es wird in wässerigen Lösungen von 1 $HgCl_2$ zu 1000 dest. Wasser verwendet. In der Gährungsindustrie kann es wegen seiner großen Giftigkeit nicht gebraucht werden, wohl aber im Laboratorium und bei der Konservierung von Holz für Telegraphenstangen, Eisenbahnschwellen u. degl., das damit imprägniert wird. Zur Desinfektion von Bakterienkulturen in eiweißhaltigen Flüssigkeiten

muß es in größerer Konzentration angewendet werden, da es mit Eiweißkörpern unlösliche Verbindungen eingeht und dadurch der Lösung entzogen wird.

Kupfersalze finden besonders bei der Sterilisation des Holzes und von Wänden Verwendung. Häufig werden Mischungen mit organischen Desinfektionsmitteln vorgenommen oder Kupferverbindungen mit organischen Säuren hergestellt. Das Mikrosol ist ein solches kupferhaltiges Antiseptikum, das auch etwas Flußsäure enthält. Es besteht demnach aus Kupfersulfat, phenolschwefelsaurem Kupfer und etwas Flußsäure. Man gebraucht es zu desinfizierenden Wandanstrichen in 4 %iger Lösung.

Wichtiger in der Mykologie ist die Fluorwasserstoffsäure und besonders ihre Salze als Desinfektionsmittel, da gegen sie die Hefen weniger empfindlich sind als die Schizomyzeten und damit eine Unterdrückung letzterer ohne Schädigung der ersteren möglich wird. Von flußsäurehaltigen Desinfektionsmitteln sind vor allen zu nennen das Fluorammonium, das schon oben genannte Mikrosol und Montanin. Letzteres ist ein Nebenerzeugnis der Tonindustrie. Sein wirksamer Bestandteil ist Kieselfluorwasserstoffsäure. Man verwendet im allgemeinen eine 2—4 %ige Lösung durch 2—10 Stunden hindurch zur Sterilisation von Holzgeräten, Kautschuckschläuchen u. degl. Zur Desinfektion von Metallen nimmt man dieselbe Konzentration, aber läßt kürzere Zeit einwirken. Auch Lacke werden von dem Montanin nicht angegriffen. In bezug auf die Desinfektionskraft können die Flußsäurepräparate in folgender Reihe, von links nach rechts steigend, nach Will aufgestellt werden:

Mikrosol — Montanin — Fluorammonium — Flußsäure.

Chlor und Brom werden in Gasform kaum zu Desinfektionszwecken benutzt, wohl aber als Chlorkalk und Bromlösungen in Bromkalium. Besonders letztere Methode soll sich zur Wassersterilisation gut eignen, nachdem schon durch 0,06 g Br im Liter Wasser in fünf Minuten völlige Sterilität in demselben hervorgerufen wird. In der Brauerei benutzt man zum Reinigen und Desinfizieren besonders der Rohrleitungen das sog. Antiformin in einer Konzentration von 1:20. Dasselbe besteht aus Natriumhydroxyd und Natriumhypochlorid.

Eine gewisse Bedeutung als Desinfektionsmittel besitzt auch die Soda (kohlensaures Natron) in einer 2—5 %igen Lösung. Gewöhnlich verwendet man die Sodalösungen heiß, zugleich als gutes Reinigungsmittel. Die desinfizierende Wirkung ist auf die stark alkalischen Eigenschaften zurückzuführen.

Dieselbe Ursache hat die desinfizierende Wirkung von frisch hergestellter Kalkmilch, die als Anstrich zur Entkeimung von Wänden stark verwendet wird.

Ein hervorragend gutes Desinfektionsmittel ist das Wasserstoffperoxyd (H_2O_2), das durch abgegebenen aktiven Sauerstoff wirkt, wodurch es während der Wirkung allmählich in Wasser übergeht. So kann es wohl neben dem Ozon als das für höhere Organismen unschädlichste Antiseptikum bezeichnet werden. Es sterilisiert Trinkwasser in 24 Stunden bei einer Menge von etwa 0,1 g im Liter vollständig, ohne ihm einen Beigeschmack zu verleihen. Allerdings darf dann nur die reinste Marke Wasserstoffperoxyd, z. B. Perhydrol Merk, verwendet werden, was aber die Kosten sehr erhöht.

Dem Ozon (O_3) scheint keine besonders große desinfizierende Kraft im allgemeinen inne zu wohnen. Immerhin tötet es aber pathogene Mikroorganismen ziemlich rasch ab. Wenn es auch im großen angewendet werden könnte, so sind doch die Kosten ziemlich groß, da es ja vornehmlich zur Trinkwassersterilisation berufen erscheint, wo natürlich große Wassermengen damit behandelt werden müssen.

Nachdem wir nun kurz die allerwichtigsten, mineralischen Antiseptika erwähnt haben, wenden wir uns dem Heer der **organischen Desinfektionsmittel** zu. Die durch Bakterien selbst erzeugten organischen Säuren, wie Milchsäure u. a. sind größtenteils gute Desinfektionsmittel für andere Bakterien. Die Konservierung von gewissen Nahrungsmitteln, wie saure Gurken usw., beruht ja gerade auf der Bildung von Milchsäure. Ein verhältnismäßig stark wirkendes Antiseptikum ist die Zitronensäure.

Alle Alkohole der Fettreihe sind besonders für jene Mikroorganismen wachstumshindernd und tötend, die dieselben nicht selbst erzeugen oder sie weiter als Kohlenstoffquellen benutzen. In stärkeren Konzentrationen sterilisieren sie alle Mikroben. Von besonderer Bedeutung ist der Äthylalkohol in wässeriger Lösung von 50—60 Proz. Gehalt. In konzentrierter Lösung nimmt die Desinfektionskraft ab und erlischt bei Wasserfreiheit desselben.

Ein in vielen Fällen brauchbares Antiseptikum von allerdings schwächerer Wirkung ist Äthyläther, der in 10—15 Proz. einer Flüssigkeit zugesetzt, nach einiger Zeit sie vollständig steril macht und nachher unter der Luftpumpe wieder entfernt werden kann. Diese Art der Sterilisation kann mit Vorteil für Eiweißsubstanzen verwendet werden, da dabei diese empfindlichen Stoffe ungeronnen und vollständig erhalten bleiben. Azeton, Chloroform, Benzol und Toluol kann man in gleicher Weise zur Desinfektion gebrauchen.

Von großer Desinfektionskraft ist der Formaldehyd in wässeriger Lösung. Er kommt unter dem Namen Formalin in 40 %iger wässeriger Lösung in den Handel. Man gebraucht ihn in Lösungen von 1 : 1000 bis 1 : 500 zur Sterilisation, während Verdünnungen von 1 : 20000 bereits entwicklungshemmend wirken.

Die weiteste Verbreitung haben neben dem Formaldehyd die Kresole und das Phenol gefunden, deren keimtötende Eigenschaften gerade nicht sehr groß sind. Die Karbolsäure verwendet man in 3—5%igen wässerigen Lösungen. Gewöhnlich werden nicht die reinen Präparate verwendet, sondern Zusammenstellungen mit Zusätzen, die die Desinfektionskraft erhöhen und die Löslichkeit in Wasser fördern. In der folgenden Tabelle sind einige wenige derselben kurz charakterisiert:

Kresolin: 1/4	Kresole Kresolverbindungen Kohlenwasserstoffe	+ 3/4 Harzseife
Lysol: Teeröle	viel Phenole und wenig Kohlenwasserstoffe	+ Seife
Kreolin: Teeröle	wenig Phenole und Kresole, viel Kohlenwasserstoffe	+ Seife
Antinonin:	Orthodinitrokresolkalium	+ Seife + Glyzerin.

In diesen angeführten Beispielen sind nur die wichtigsten Bestandteile angegeben. Das wirksame Agens sind immer die Kresole und Phenole bzw. deren Salze, während die Seifen usw. kaum nennenswert desinfizieren, sondern vielmehr das Eindringen der wirksamen Substanzen erleichtern.

Wollte man alle organischen Antiseptika und Kombinationen organischer Verbindungen mit Metallen usw. auch nur aufzählen, so würde dies eine riesige Liste geben. Es vergeht fast kein Tag, an dem nicht neue Desinfektionsmittel auftauchen.

Wir haben uns noch kurz mit der kombinierten oder gemischten **Sterilisation** zu befassen. Gewöhnlich vereinigt man Temperaturwirkungen mit chemischen. Mit Zunahme der Temperatur wirkt jedes Antiseptikum energischer, weshalb man zur Erreichung des gleichen Endzweckes mit zunehmender Erwärmung die Konzentration herabmindern kann, was in vielen Fällen offenbare Vorteile hat. Eine solche Sterilisation führt man auch bei der Haltbarmachung von vergorenen Getränken durch, die man durchaus nicht bei 100° zu dämpfen braucht, weil schon eine Temperatureinwirkung von 50—60° bei dem gleichzeitig wirkenden Alkohol eine völlige Sterilisation bedingt. In der Praxis bezeichnet man diese Konservierung bei niedriger Temperatur als Pasteurisieren, wie wir schon hörten. Die alkoholfreien unvergorenen Fruchtsäfte und Weine erfordern eine etwas höhere Erwärmung, etwa auf 65—70°, da hier der die Sterilisation fördernde Alkohol fehlt. Aber auch die reichlich vorhandenen organischen Säuren wirken in diesem Falle förderlich.

Die Sterilisation mit Wasser-Alkoholdämpfen und Wassser-Formaldehyddämpfen gehört ebenfalls hieher, da trockene, reine Alkohol- oder Formaldehyddämpfe praktisch unwirksam sind.

Literatur zur Vorlesung XIII.

Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903,
Miehe, H., Die Selbsterhitzung des Heus. Jena 1907.
Henneberg, W., Gärungsbakteriologisches Praktikum. Berlin 1909.
Behrens, J., Wirkung äußerer Einflüsse auf die Gärungsorganismen und gegenseitige Beeinflussung dieser selbst. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 438 ff.
Blau, O., Über die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und der Sporenbildung, sowie die supramaximalen Tötungszeiten der Sporen der Bakterien, auch derjenigen mit hohen Temperaturminima. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 15, S. 97. 1905.
Molisch, H., Die Purpurbakterien. Jena 1907.
Kruse, W., Allgemeine Mikrobiologie, S. 144 ff. Leipzig 1910.
Tassily et Cambier, Action abiotique des rayons ultraviolets d'origine chimique. Compt. rend. hebd. de séanc., de l'acad. de science, T. 151, 1910.
Reitz, A., Untersuchungen mit photodynamischen Stoffen (photobiologischen Sensibilisatoren). Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 45, S. 270, 1908.
Höber, R., Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1906.
Benecke, W., Giftwirkungen. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 482.

Über Sterilisation:

Burri, R., Das Sterilisieren. Lafar's Handb. d. techn Mykologie, Bd. 1, S. 514.
Fuhrmann, F., Die wichtigsten Methoden beim Arbeiten mit Pilzen und Bakterien. Abderhaldens Handb. d. biochem Arbeitsmethoden, Bd. 3, S. 1204, 1910.
Lindner u. Wichmann, Betriebskontrolle. Lafar's Handb d. techn. Mykologie, Bd. 5, S. 178.

VIERZEHNTE VORLESUNG.

Fäulnis und Verwesung. Harnstoffzersetzung, Nitrifikation, Denitrifikation.

Die Kenntnis der Fäulnis und Verwesung ist für den technischen Mykologen von großer Bedeutung, da diese Vorgänge einerseits mächtig in den Umsatz des Stickstoffes in der Natur eingreifen, andererseits aber stark an zahlreichen, technisch wichtigen Vorgängen beteiligt sind, wie beispielsweise in der Gerberei, Käserei, Molkerei und außerdem in vielen Fällen gefürchtet werden, wie bei der Konservenherstellung.

Wir wollen unter **Fäulnis** eine tiefgehende Zersetzung von Eiweißstoffen unter Ausschluß des Luftsauerstoffes verstehen, und unter **Verwesung** jene sehr tiefen Zerlegungen der Proteine zusammenfassen, die vornehmlich unter Zutritt des Sauerstoffes zustande kommen. Beide Vorgänge sind in der Natur kaum streng zu trennen. In erster Linie gehen sie auf Mikroorganismen zurück.

Wir befassen uns zunächst mit der durch Reinkulturen erzeugten

Fäulnis.

Unserer an die Spitze gestellten Definition entsprechend wird dieselbe vornehmlich durch anaërobe Bakterien hervorgebracht, also Mikroorganismen, die nur unter völligem Ausschluß des Luftsauerstoffes oder doch unter sehr vermindertem Drucke desselben zu leben vermögen. Es wurde eine Anzahl solcher als Fäulnisbakterien bekannt und ihre Einwirkung auf Proteine studiert. Der Abbau des Eiweißmoleküles erfolgt bei der Fäulnis tief, aber die Zersetzung ist keine vollständige. Durch die meisten anaëroben Fäulnisbakterien wurden die Proteine ohne Bildung von Indol, Skatol und Phenol zersetzt. Allerdings gibt es auch hier Ausnahmen, wie beispielsweise den Bacillus saprogenes carnis, der diese aus dem Tryptophan und Tyrosin hervorgehenden Produkte liefert. Übrigens sind die bei der Fäulnis durch Reinkulturen hervorgegangenen Endprodukte etwas verschieden nach dem angewendeten Ausgangsmaterial und der Bakterienart.

So hat sich für einen typischen Vertreter anaërober Fäulnisbakterien, den Bacillus putrificus Bienstock für die Fäulnis des Fibrins das Resultat ergeben, daß nach etwa 14 Tagen eine komplette Verflüssigung desselben unter Bildung von sehr stinkenden flüchtigen Produkten und Gasen eintrat. Die faulende Masse enthielt Peptone, also komplexe

Polypeptide, Leuzin und Tyrosin und Buttersäure, Valeriansäure, Paroxyphenylpropionsäure, Skatolkarbonsäure, große Mengen von Schwefelwasserstoff, Ammoniak und Aminbasen. Bei der Fäulnis entsteht dann noch reichlich Kohlendioxyd, meist Wasserstoff und mitunter auch Methan. Die flüchtigen Fettsäuren können gerade hier sehr verschiedener Natur sein. Wir sehen aus alledem, daß der Vorgang der Fäulnis an sich sehr komplizierter Natur ist und daß dabei außer hydrolytischen Spaltungen sicher auch Oxydationen und Reduktionen beteiligt sind, die teils auf die lebende Zelle zurückgehen, teils aber auch gewiß als Enzymwirkungen aufzufassen sind.

Einen viel besseren Einblick geben uns die mit dem Bacillus proteus, einer allerdings nicht streng anaëroben Bakterienart, die also mit und ohne Luftsauerstoff gedeiht, neuerdings angestellten Fäulnisversuche von Berghaus und Nawiasky. Aus diesen geht hervor, daß von dieser Bakterienart in erster Linie komplexe Polypeptide abgebaut werden, wobei über Aminosäure hinüber sehr viel Ammoniak gebildet wird. Noch interessanter sind die Untersuchungen Nawiaskys über die Zersetzung von Asparagin und Aminosäuren durch die Zellen des Bacillus proteus, da aus ihnen der tiefe Abbau dieser Verbindungen hervorgeht und die Tatsache, daß derselbe durch Enzyme bewerkstelligt wird.

Das **Asparagin** zerfällt dabei durch Hydrolyse, also unter Aufnahme von Wasser in asparaginsaures Ammoniak, das einer weiteren Reduktion und teilweisen Oxydation anheimfällt, wozu der Wasserstoff und Sauerstoff des Wassers aller Wahrscheinlichkeit nach verwendet wird. Wir erhalten somit:

Aus Asparaginsäure { durch Reduktion: Bernsteinsäure + Ammoniak + Essigsäure. durch Oxydation: Kohlensäure. }

Es entsteht aus der Bernsteinsäure { durch Reduktion: Essigsäure. durch Oxydation: Kohlensäure. }

Die Essigsäure kann ebenfalls durch den vom verbrauchten Wasserstoff aus dem Wasser noch restierenden Sauerstoff bis zu Kohlensäure oxydiert werden. Es ergeben sich somit als Hauptprodukte der Fäulnis des Asparagins durch Bacillus proteus vornehmlich Ammoniak und Kohlensäure und in geringerer Menge Bernsteinsäure und Essigsäure neben anderen Nebenprodukten flüchtiger und nichtflüchtiger Natur.

Von einigen geprüften Aminosäuren seien die Ergebnisse der Zersetzung durch den Bacillus proteus kurz in folgender Zusammenstellung in qualitativer Beziehung wiedergegeben:

Aminopropionsäure (Alanin): nachgewiesen nur Essigsäure, Ammoniak.

Phenylalanin: Ammoniak, Benzoesäure, Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure, Phenyläthylamin, Benzaldehyd.

Aminovaleriansäure: Buttersäure, Essigsäure, Isobutylalkohol.

Glutaminsäure: Ammoniak, Bernsteinsäure, Essigsäure.

Pyrrolidinkarbonsäure: Ammoniak, Aminovaleriansäure.

Wir sehen, daß meist in erheblichen Mengen Ammoniak neben flüchtigen und nicht flüchtigen Säuren bei der Proteusfäulnis von Aminosäuren resultiert.

Auch die durch die sauerstoffliebenden Mikroben hervorgerufene Fäulnis führt zu ähnlichen einfacheren Endprodukten, wenn auch die Zersetzung tiefer geht und darin die einfachsten Zersetzungsprodukte, Ammoniak, Kohlensäure und Wasser dominieren. Dabei finden wir übrigens auch eine Entbindung elementaren Stickstoffes, die allerdings nur dann erheblichere Dimensionen annimmt, wenn im Fäulnisgemisch Salpeterstickstoff zugegen ist.

Beispiele aërober Fäulnisbakterien sind die weit und breit in Wasser vorkommenden, fluoreszierenden Pseudomonasarten, die Gelatine in Pepton und Ammoniak, Methylamin, Trimethylamin, Cholin und Betain zersetsen. Auch die Vertreter der Heubazillengruppe, von denen einige bei der Reifung des Käses hervorragend beteiligt sind, gehören ebenfalls zu den Fäulnisbakterien, obgleich sie keine besonders tiefe Zerlegung des Kaseins oder überhaupt der Proteine herbeiführen. Gewöhnlich werden reichlich Peptone und Ammoniak, dann weniger ausgiebig Valeriansäure und Buttersäure daneben erzeugt. Speziell der Bacillus subtilis spaltet und zersetzt das Kasein in Pepton, Leuzin, Tyrosin, Tryptophan, aromatische Oxysäuren, Ammoniak und Fettsäuren. Sehr energisch wirken die Kartoffelbazillen, von denen einige für das Fadenziehen des Brotes in Betracht kommen, indem sie Proteine bei längerer Einwirkungsdauer sehr tief zersetzen. Man findet in diesem Falle neben geringen Mengen erhaltener Polypeptide hauptsächlich Kohlendioxyd, Ammoniak, Indol, Skatol, Kresol, Phenol, Skatolkarbonsäure, Merkaptan, Aminbasen, Buttersäure, Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure, aromatische Oxysäuren und Schwefelwasserstoff, also Produkte einer echten, stinkenden Fäulnis.

Die Bildung von Indol ist bei den aëroben Fäulnisbakterien überhaupt weit verbreitet.

Für die bei der Fäulnis auftretenden basischen Verbindungen, die ihrer chemischen Beschaffenheit nach verschiedenen Körpergruppen angehören, gebraucht man ganz allgemein den Namen Ptomaine. Einige derselben sind außerordentlich giftig. Ptomaine entstehen übrigens im normalen Stoffwechsel aller Organismen ständig. Bei der Fäulnis treten je nach dem Fäulniserreger die einen oder anderen besonders in den Vordergrund. In dieser Hinsicht verhalten sich die einzelnen Fäulnisbakterien sehr verschieden. Für die Ptomaine kommen gewisse Muttersubstanzen besonders in Frage.

Aus dem in den tierischen und pflanzlichen Organismen reichlich vertretenen Lezithin entsteht bei der Fäulnis neben Fettsäuren und Glyzerinphosphorsäure das Cholin, eine Base, die schon oben bei der Fäulnis durch fluoreszierende Wasserbakterien Erwähnung fand. Es ist wenig giftig. Die Oxydation des Cholins liefert zwei weitere basische Stoffe, das Betain und Muskarin, welche beide ebenfalls unter den Fäulnisprodukten gefunden worden sind. Sehr häufig beobachtet man bei der Fäulnis auch das Neurin, welches sehr giftig ist und durch Abspaltung von einem Molekül Wasser aus dem Cholin entsteht.

Die ebenfalls zu den Ptomainen rechenbaren Basen der aromatischen Reihe haben wir teilweise bei der Zersetzung der Aminosäuren kennen gelernt. Sie gehen vornehmlich aus dem Tyrosin hervor, vielleicht aber auch aus Diaminosäuren und Diaminen.

Wir haben dann unter den Ptomainen noch zu erwähnen Basen der aliphatischen Reihe, die zum größten Teil bereits bei Besprechung der aëroben Fäulnis genannt worden sind, wie Dimethylamin, Trimethylamin, dann Methylamin, die aber nicht giftig sind. Daneben finden sich aber auch Diamine, so besonders Äthylendiamin, Putreszin, Cadaverin, Neuridin und Saprin. Auch ihnen kommt keine besondere Giftigkeit zu, da sie nur in großen Dosen toxische Erscheinungen hervorrufen. Als besonders giftiges Ptomain der aliphatischen Reihe sei noch das in Cholerakulturen auftretende sehr giftige Methylguanidin hier genannt.

In der freien Natur haben wir immer eine gemischte Fäulnis vor uns, die durch eine Reihe von nebeneinander und hintereinander tätigen Mikroben ausgelöst wird. Außerdem kann zur echten Fäulnis noch die Verwesung hinzutreten, wenn die Luft mehr oder minder großen Zutritt besitzt. Die Zersetzung der Eiweißkörper ist dabei eine sehr tiefgehende, und wir finden immer die meisten der oben genannten Fäulnisprodukte. Wenn wir kurz die Körper, die die Fäulnis in der Natur liefert, aufzählen, so erhalten wir:

Sämtliche Fettsäuren, mit 1—6 Kohlenstoffatomen (Kapronsäure);
Oxalsäure, Milchsäure und Bernsteinsäure;
Aromatische Säuren; Alkohole und Kohlenwasserstoffe;
Schwefelsäure, Schwefelwasserstoff, Methylmerkaptan;
Phosphorsäure;
Kohlensäure, Stickstoff, gelegentlich Wasserstoff und Methan, Ammoniak;
Wasser.

Allerdings ist auch die Aufspaltung in die letzten einfachsten Verbinbindungen, wie Kohlensäure, Wasser, Ammoniak, Schwefelwasserstoff und Phosphorsäure, auch keine vollständige. Als Restprodukte bleibt eine kompliziert gebaute Substanz übrig, die man als Humus bezeichnet und die keineswegs einheitlicher Natur ist.

Der eventuelle Unterschied zwischen Fäulnis und Verwesung in bezug auf die entstandenen Endprodukte dürfte wohl darin liegen, daß bei letzterer eine Reihe intermediärer Oxydationen von Zwischenprodukten auf Kosten des Luftsauerstoffes erfolgt, worauf besonders das Auftreten von Oxalsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure deutet. Meist findet dann auch eine erheblichere Entbindung von elementarem Stickstoff aus letzterer statt. Wenn wir auf das Mengenverhältnis der Zwischen- und Endprodukte bei der Fäulnis und Verwesung Rücksicht nehmen, so kommen wir zu der Tatsache, daß bei ersterer die Fettsäuren und Basen als Zwischenprodukte überwiegen, während bei der Verwesung die einfachen Endprodukte vorherrschen. Die größere Bedeutung für den Abbau der Eiweißstoffe in der Natur kommt demnach auch der Verwesung zu.

Wir haben natürlich nur jene Zersetzungsvorgänge des tierischen und pflanzlichen Eiweißes bei der Fäulnis und Verwesung im Auge gehabt, die durch Bakterien hervorgerufen werden. In der Natur selbst sind niedere und höhere Tiere und besonders Schimmelpilze und andere Organismen noch insofern an solchen Zersetzungsprozessen beteiligt, als sie ebenfalls Eiweißstoffe der Zersetzung zuführen, sie selbst teilweise durch-

führen und dabei neben Endprodukten Stoffe liefern, die wieder von den Bakterien zur Genüge abgebaut werden.

Wir haben gesehen, daß durch die Fäulnis und Verwesung der Bakterien große Mengen von Ammoniak gebildet werden. Aber auch durch die durch Pilze unterhaltene Zersetzung von anderen stickstoffhaltigen Verbindungen entstehen große Mengen von Ammonstickstoff.

An erster Stelle ist hier die **Gärung des Harnstoffes** zu nennen, die man auch als ammoniakalische Harngärung bezeichnet. Dieselbe wird durch eine große Anzahl der verschiedensten Bakterien mehr oder minder kräftig durchgeführt. Die besonders kräftig wirkenden bezeichnet man allgemein auch kurzweg als Harnstoffbakterien. Mit Miquel kann man dieselben entsprechend ihrer äußeren Form als Urococcus oder Urosarcina, wenn sie Kugelbakterien sind, und als Urobacillus, wenn sie Stäbchenform aufweisen, bezeichnen. Sie alle entwickeln sich am besten bei einer etwas unter 30° C liegenden Temperatur, vermehren sich aber auch bei Zimmerwärme sehr gut.

Gegen höhere Temperaturen, die nur wenige Grade über dem bei etwa 40° liegenden Temperaturmaximum liegen, sind die echten Harnstoffbakterien sehr empfindlich. Auch die Sporen einiger Arten sind verhältnismäßig gegen Hitze wenig resistent, da sie schon zwischen 80—90° in Wasser innerhalb weniger Minuten vernichtet werden.

Den Desinfektionsmitteln gegenüber erweisen sie sich wenig widerstandsfähig, denn Quecksilberchlorid, in einer Menge von 1:40000 bis 1:60000 den Nährböden zugesetzt, hemmt sie schon in der Vermehrung.

Die Harnstoffvergärer brauchen zu ihrem Wachstum einen stark alkalischen Nährboden, der von Haus aus schon etwa 2—3 g kohlensaures Ammon im Liter enthält, wenn darin kein Harnstoff sich befindet. In Bezug auf die Stickstoffquellen im Nährsubstrat sind die Harnstoffbakterien im allgemeinen nicht anspruchsvoll, denn sie gedeihen gut in den üblichen peptonhaltigen Nährsubstraten und auch im gewöhnlichen Hefewasser bei einem Zusatze von 2—3 g Harnstoff im Liter. Alle Harnstoffbakterien sind aërob, gedeihen also unter Luftzutritt, wenn sie sich auch mit sehr geringen Sauerstoffmengen zufriedengeben. Ihre natürlichen Standorte sind verunreinigte Wasserläufe, Abortausläufe, Dünger, Straßenkot, die Erde, besonders Gartenerde usw.

Die Harngärung erfolgt nach der Gleichung:

$$CO(NH_2)_2 + 2\,H_2O = CO_3(NH_4)_2$$

Der Vorgang ist demnach eine hydrolytische Spaltung, bei der aus einem Molekül Harnstoff unter Aufnahme von 2 Molekülen Wasser kohlensaures Ammon entsteht. Er wird durch das schon früher genannte Enzym Urease im Gang erhalten. Wie ergiebig die Tätigkeit der Harnstoffbakterien ist, geht daraus hervor, daß z. B. eines der kräftigsten Harnstoffbakterien, der Urobacillus Pasteurii in Zuchten innerhalb einer Stunde 2—3 g Harnstoff aufzuspalten vermag. Die Urease ist als ein Endoenzym aufzufassen, da es die lebende Zelle kaum verläßt. Es ist übrigens eines der empfindlichsten Enzyme, das wir kennen. Wenn Miquel durch Filtration der Zuchten wirksame zellenfreie Ureaselösungen erhalten hat, während dies anderen Forschern nicht gelang, so hat dies vielleicht seine Ursache in der Arbeitsmethode oder in der Verschiedenheit der verwendeten Bakterienarten.

Wie schon oben angedeutet, besitzen zahlreiche Fäulnisbakterien, vielleicht in weniger ausgesprochener Weise, die Fähigkeit, Harnstoff in Ammoniumkarbonat zu spalten. Übrigens sind schon eine recht ansehnliche Zahl von echten Harnstoffzersetzern eingehender untersucht und beschrieben worden, deren Charakterisierung hier füglich wegbleiben kann.

Auch die im Harn der Pflanzenfresser in großen Mengen abgegebene Hippursäure unterliegt einer Zersetzung, deren Endprodukte Ammoniak und Kohlensäure neben Benzoesäure sind; letztere wird oft weiter oxydiert. Die Spaltung soll nun in der Weise verlaufen, daß die Hippursäure unter Wasseraufnahme zuerst in Benzoesäure und Glykokoll zerfällt. Erst die weiterhin auftretende Glykokolloxydation liefert dann Kohlendioxyd und Ammoniak. Übrigens ist die Glykokollzersetzung ein noch wenig geklärter Vorgang.

Die Erreger der Hippursäurezersetzung sind ebenfalls Bakterien, die meist vergesellschaftet mit den Harnstoffbakterien in der Natur vorkommen. Übrigens scheint einigen Harnstoffbakterien auch die Fähigkeit zur Auslösung der Hippursäurespaltung zuzukommen. Jedenfalls ist aber letztere eine Eigenschaft für sich, die mit der Harngärung und der gleich zu besprechenden Harnsäuregärung nichts gemeinsam hat.

Die Zersetzung der **Harnsäure** durch weitverbreitete Bakterienarten, die teilweise Fäulniserreger sind oder ihnen sehr nahe stehen, liefert zuerst als Endprodukt vornehmlich Harnstoff, der weiterhin durch die Harnstoffbakterien verarbeitet wird. Der Prozeß selbst ist sehr komplizierter Natur und scheint nach den einschlägigen Untersuchungen bei den einzelnen Bakterienarten verschieden zu verlaufen, wenn die mit Nichtreinzuchten angesetzten Versuche auch berücksichtigt werden.

Drei Möglichkeiten des Abbaues werden angegeben, die etwa folgenden Gleichungen entsprechen:

1. $C_5H_4N_4O_3 + 8H_2O + O_3 = 4NH_4HCO_3 + CO_2$

Die Harnsäure wird also oxydiert und hydrolisiert, wobei als Zwischenprodukt Harnstoff und als Endprodukte Ammoniumbikarbonat und Kohlendioxyd entstehen.

2. $C_5H_4N_4O_3 + 4H_2O = 2CH_4N_2O + C_3H_4O_5$

In diesem Falle entstehen bei der hydrolitischen Spaltung der Harnsäure Harnstoff und Tartronsäure. Ersterer wird in der Folge durch die Harnstoffbakterien weiter gespalten.

3. $C_5H_4N_4O_3 + 2H_2O + O_3 = 2CO(NH_2)_2 + 3CO_2$

Hier wird die Harnsäure in Harnstoff und Kohlendioxyd gespalten, ein Vorgang, der an einer von Ulpiani aus Hühnerfäzes reingezüchteten Bakterienart beobachtet worden war. Der so entstandene Harnstoff unterliegt dann der Harngärung.

An dieser Stelle ist auch der Zersetzung des **Kalkstickstoffes**, des Kalziumzyanamids, zu gedenken. Derselbe findet jetzt als Düngemittel in der Landwirtschaft weitere Verwendung und gibt bei seiner Spaltung ebenfalls Harnstoff, der weiterhin der Harngärung verfällt. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist das Zyanamid den Bakterien nicht unmittelbar zugänglich. Wohl aber wird es im Boden unter dem Einflusse der Kohlensäure in Ammoniumzyanat und dieses in Harnstoff verwandelt. Jetzt setzt die Bakterientätigkeit ein und durch sie entsteht Ammoniumkarbonat.

Die durch Bakterien und Pilze herbeigeführte Zersetzung des **Hornstoffes** führt ebenfalls zur Bildung von Ammoniak als Endprodukt.

Wir haben also gesehen, daß alle Zersetzungen der organischen Stickstoffverbindungen vorwiegend Ammonstickstoff als ein Endprodukt aufweisen.

Ein großer Teil des Ammonstickstoffes wird nun durch die Salpeterbakterien zu Salpeterstickstoff oxydiert. Diesen Vorgang bezeichnen wir als

Nitrifikation.

Dieselbe ist in der Natur sehr weit verbreitet und liefert sehr bedeutende Mengen von Salpeterstickstoff, der der höheren Pflanze, wie wir es schon beim Kreislauf des Stickstoffes kennen gelernt haben, neben anderen Verbindungen vornehmlich als Stickstoffquelle dient.

Wir müssen bei der Besprechung der Nitrifikation die in Reinkulturen sich abspielenden Vorgänge von denjenigen in der freien Natur herrschenden auseinanderhalten.

Für den ganzen Prozeß der Oxydation von Ammonstickstoff zu Salpetersäure kommen zweierlei Arten von Bakterien in Betracht, die in Reinkultur hintereinander arbeiten. Zuerst wird der Ammonstickstoff zu salpetriger Säure oxydiert. Dieser Vorgang wird durch eine bestimmte Bakteriengruppe, die Nitrosobakterien oder Nitritbakterien unterhalten. Die salpetrige Säure wird dann von einer zweiten Bakteriengruppe, den Nitrobakterien oder Nitratbakterien weiter zu Salpetersäure oxydiert. Bei beiden Prozessen dürfen aber weder freies Ammoniak noch freie salpetrige Säure und Salpetersäure in erheblicheren Mengen vorhanden sein. Außerdem soll die Nährflüssigkeit eine schwach alkalische Reaktion aufweisen. Beide Arten von Organismen gedeihen am besten und nitrifizieren am kräftigsten bei 37° C. Sie sind gegen Erhitzen sehr empfindlich, denn im allgemeinen werden die Nitritbildner schon innerhalb von 5 Minuten bei 45° C vernichtet, während die Nitratbildner in dieser Zeit erst bei 55° C absterben. Eine Sporenbildung wurde bei ihnen bisher nicht beobachtet. Die natürlichen Standorte und Fundorte der Nitrifikationsbakterien sind das Wasser und vornehmlich die oberen Erdschichten.

In bezug auf die Ernährungsansprüche verhalten sich beide Bakteriengruppen sehr ähnlich. Organische Stickstoffquellen und nicht einmal Amine werden durch sie zersetzt oder assimiliert. Nur der Ammonstickstoff in bestimmter Bindung dient den Nitritbildnern als Stickstoffquelle und die gebundene salpetrige Säure den Nitratbildnern. Für die Nitrifikation eignen sich aber keineswegs alle Ammonverbindungen gleich gut. Es werden vielmehr einige besonders vorgezogen, was für schwefelsaures Ammon gilt, das am besten in einer Menge von 2—2,5 g im Liter nitrifiziert wird. Fast eben so stark in der gleichen Konzentration wird das Ammoniumborat und Ammoniumfluorid oxydiert und vertragen, während alle übrigen untersuchten Ammonverbindungen nur in geringerer Konzentration dargereicht werden dürfen. Selbstverständlich findet die Oxydation nur bei Anwesenheit einer kohlensauren Base statt. Die in der Nährlösung sich ansammelnden Nitrite hemmen nun die weitere Ammoniakoxydation, wenn sie in größerer Menge vorhanden sind. Das Gleiche gilt für die von vornherein etwa zugesetzten Nitrite. In dieser Beziehung

wirken die Alkalinitrite aber anders als die Nitrite der alkalischen Erden, indem erstere stärker hemmen als letztere.

Die Nitratbildner werden ebenfalls durch zu große Gaben von Nitrit gehemmt. Es hat sich gezeigt; daß die Nitratation dann am besten verläuft, wenn etwa 1 g Natriumnitrit im Liter zugegen ist. Jedenfalls darf aber die Menge nicht über 20 g im Liter steigen. Die Anhäufung von Nitraten ist der weiteren Nitritoxydation weniger hinderlich, da selbst eine Menge von 20 g $NaNO_3$ im Liter den Vorgang kaum ungünstig beeinflußt. Erst bei 25 g steht der Prozeß still. Auch die Nitrite von Schwermetallen werden in verhältnismäßig großen Mengen oxydiert, wie der Versuch mit Baryum-, Zink-, Blei-, Mangan- und Kupfernitrit lehrt. Dieselben können in Dosen von 0,5—1 g im Liter vorhanden sein. Schwefelsaures Eisenoxydul in Mengen von 0,4 pro mille fördert die Nitratation in augenfälliger Weise. Wie wir schon früher hörten (S. 138) enthalten die künstlichen Nährsubstrate zur Reinzucht des Nitritbildners keine organischen Stickstoffverbindungen. Auch der Nitratbildner verträgt in der Kultur nur geringe Spuren gelöster organischer Stickstoffverbindungen.

In bezug auf die Kohlenstoffquelle verhalten sich beide Arten gleich. Sie brauchen keine organischen Kohlenstoffverbindungen, sondern assimilieren Kohlensäure im freien und halbgebundenen Zustand. Zur Entfachung der Entwicklung einer Zucht unserer Bakterien genügen aber schon Spuren von Kohlendioxyd. In der künstlichen Zucht werden die Nitrifikationsmikroben durch alle organischen Kohlenstoffverbindungen im Wachstum mehr oder weniger gehemmt, wenn sich auch die einzelnen Verbindungen in dieser Hinsicht verschieden verhalten.

Wir wollen zunächst die bekannteren Nitritbildner kurz charakterisieren. Wir können da zwei Typen europäischer Arten unterscheiden.

Der westeuropäische Typus ist gegeben in den aus Züricher Erde und den aus der Erde von Gennevilliers in Frankreich gezüchteten Formen, die in jeder Beziehung einander außerordentlich ähnlich sind, so daß ihre Indentität wohl außer Zweifel steht. Winogradsky bezeichnet ihn als Nitrosomonas. In einer passenden Nährflüssigkeit (s. S. 138) entwickeln sich zuerst die Bakterien nur langsam. Man findet ovale und kugelförmige Zellen in dem Bodensatz der klaren Kulturflüssigkeit nur in spärlicher Anzahl und meist zu sehr kleinen Zoogloën vereinigt. In der Figur 67 bei *c* sind solche Häufchen abgebildet, in denen man gut die einzelnen Zellen unterscheiden kann. Die Zellen allein sind in *a* wiedergegeben. Nach 7—10tägiger Zucht beginnt sich die Kulturflüssigkeit zu trüben, was auf Schwärmerbildung zurückzuführen ist. Die freien Zellen messen im Mittel 0,9—1 μ in der Breite und 1,2—1,8 μ in der Länge. Sie tragen eine kürzere Geißel, wie es in *b* der Figur 67 dargestellt ist. Übrigens tritt manchmal die Neigung der Zellen in den Vordergrund vornehmlich zu schwärmen, manchmal wieder hauptsächlich große Wuchsverbände mit ruhenden Zellen zu bilden.

Bei der Zucht auf festen Nährsubstraten, wie auf der von Winogradsky eingeführten Kieselsäuregallerte oder den von Omelianski angegebenen Magnesiagipsplatten sind die Erscheinungen der Koloniebildung anders.

Auf der für die Reinzucht dieses Organismus hervorragend tauglichen Kieselsäuregallerte sind die jungen Kolonien fast ungefärbt

und stark lichtbrechend. Nach etwa 14 Tagen bräunen sie sich intensiv und von diesen braunen Zentren verbreiten sich helle Auflagerungen in die Umgebung. In *d* der Figur 67 sind diese Verhältnisse zur Darstellung gebracht.

Auf der Magnesiagipsplatte erscheinen nach 4—5 Tagen kleine, gelbliche, zarte Auflagerungen, die wie Wärzchen aussehen und sich später dunkelbraungelb verfärben. Sie erreichen im Maximum einen Durchmesser von etwa einen halben Millimeter. Von ihnen gehen dann ebenfalls flächenhafte Auflagerungen von hellgelber Farbe aus. In *e* der Fig. 67 sind zwei Stücke von Magnesiagipsplatten mit ihren Kolonien gezeichnet, links die warzenförmigen Gebilde, rechts die ältere von diesem Kern ausgehende dünne Auflagerung.

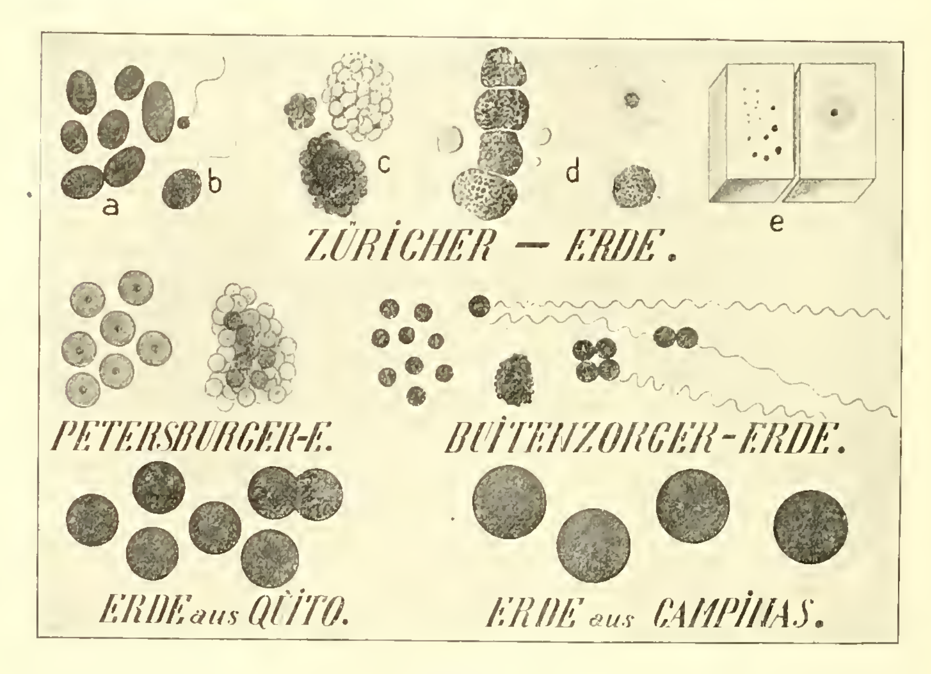


Fig. 67.

Das aus Petersburger Erde gezüchtete Nitritbakterium, als Typus der osteuropäischen Art, gehört zu den Kugelbakterien. Sein Durchmesser beträgt etwa 1 μ. Morphologisch interessant ist ein in der Zelle immer sichtbares, zentrales Körperchen, das sich besonders durch Methylenblaufärbung darstellen läßt. In Figur 67 sind die Zellen allein und zu einer Zoogloea vereinigt abgebildet.

Gut untersucht ist auch ein Nitritbildner aus Java, der aus Erde von Buitenzorg reingezüchtet worden ist. Derselbe ist eine sehr kleine Kugelbakterie von 0,5—0,6 μ Durchmesser, der eine außerordentlich lange Geißel trägt, die mitunter eine Länge von 30 μ erreicht. Auch dieses Nitritbakterium bildet in Flüssigkeiten zuerst sehr dicht gefügte Zoogloëen, in denen die Zellen kaum zu unterscheiden sind. In der

Figur 67 sehen wir die begeißelte Form desselben samt einem kleinen Wuchsverband abgebildet.

Aus südamerikanischer Erde, die aus Quito stammt, hat Winogradsky einen sehr großen Nitritkokkus isoliert, dessen Zellen 1,5—1,7 μ im Durchmesser besaßen. Auch ihm kommt die Eigenschaft der Zoogloëenbildung zu. Auch er ist in Figur 67 abgebildet. Der aus Erde von Campinas in Brasilien stammende Nitrosokokkus, der ebenfalls in Figur 67 abgebildet ist, besitzt eine enorme Größe, denn seine Zellen messen bis zu 2 μ im Durchmesser.

Winogradsky hatte noch eine Reihe anderer außereuropäischer Erdproben auf Nitritbakterien untersucht und solche auch tatsächlich überall nachweisen können.

Auch die Nitrobakterien, die also Nitrite zu Nitraten oxydieren, finden sich über die ganze Erde verbreitet und können entweder mit der Kieselsäuregallerte oder noch einfacher mit Hilfe des Nitritagars reingezüchtet werden. Zur Zucht verwendet man eine alkalische Nährflüssigkeit, die frei von organischen Verbindungen ist. Winogradsky gibt folgende an:

Natriumnitrit	1,0 g
Kaliumphosphat	0,5 „
Magnesiumsulfat	0,3 „
kalzinierte Soda	1,0 „
Kochsalz . . . . . . , . .	0,5 „
Ferrosulfat	0,4 „
Dest. Wasser	1000 ccm

Nach demselben Autor hat der „Nitritagar“ zur Isolierung folgende Zusammenstellung:

Natriumnitrit . . .	2 g
Kalzinierte Soda .	1 g
Kaliumphosphat . .	Messerspitze
Agar	15 g
Flußwasser . . .	1000 ccm

Die mit dem Flußwasser hineingelangende Menge organischer Substanz ist so gering, daß dadurch das Wachstum nicht gehemmt wird. Übrigens enthält der Agar ebenfalls eine nicht unbeträchtliche Menge löslicher organischer Substanz, die anscheinend hier ebenfalls nicht schädlich wirkt.

Die Untersuchung der Erdproben aus verschiedenen Gebieten der Erde auf Nitratbakterien mit Hilfe des Nitratagars ergab, daß für diesen Vorgang überall eine sehr ähnliche Bakterienart in Betracht kommt. Dieselbe wächst auf dem genannten Nährboden unter Bildung von schleimtröpfchenartigen Kolonien, die nach etwa zwei Wochen einen maximalen Durchmesser von 100—180 μ erreichen. Die Vermehrung geht also sehr langsam vonstatten. Es handelt sich beim Nitratbildner um sehr kleine Stäbchenbakterien mit verjüngten Enden, deren Länge kaum 1 μ erreicht und deren Breite ca. 0,3—0,4 μ mißt. Die äußeren Teile ihrer Membran sind in eine Schleimhülle verwandelt, die man durch Kapselfärbungsverfahren nachweisen kann. Winogradsky konnte an seinen Nitratbakterien keine Schwärmzustände beobachten.

Wir haben aus den bisher mitgeteilten Befunden mit Recht den Schluß gezogen, daß die Nitratbildner und die Nitrobakterien organische

Substanzen in den Kulturen nicht vertragen. Neuere Versuche haben indessen ergeben, daß sich die Nitrifikationsbakterien bei der Verwendung anderer Nährsubstanzgrundlagen in dieser Hinsicht anders verhalten. Züchtet man diese Bakterien in Erdnährböden, die also den natürlichen Verhältnissen nahekommen, so wirken Zusätze von Zucker und besonders Humus nicht nur nicht hinderlich auf die Nitrifikation, sondern fördern dieselbe sogar in manchen Fällen. Auch die Anwesenheit von anderen Bakterien oder Pilzen in lebendem oder totem Zustande verhinderte in Versuchen mit Erde die Nitrifikation keineswegs.

Alle diese Versuche nähern sich schon sehr den Verhältnissen in der freien Natur, wo doch im größten Umfange die Nitrifikation in der wärmeren Jahreszeit auftritt. Dort gilt auch die aus den Laboratoriumsversuchen an Reinkulturen und Rohkulturen mit bestimmten Nährlösungen gewonnene Erfahrung nicht, daß die beiden Etappen der Ammoniumoxydation zu Salpeter zeitlich getrennt voneinander verlaufen und die Nitritbakterien zuerst den größten Teil des Ammoniumkarbonates zu Nitrit verwandeln und dann erst die Nitratbildner mit ihrer Tätigkeit einsetzen. Finden wir doch in der Natur höchst geringe Mengen von Nitriten und fast immer ausschließlich Nitrate. Hier herrschen eben weitaus andere äußere Bedingungen, die ein unmittelbares und zeitlich nicht getrenntes Arbeiten der Mikroben ermöglichen. Diese Bedingungen haben wir lange noch nicht erkannt. Es sollen uns aber diese Erfahrungen zur Vorsicht mahnen, wenn wir geneigt sind, mit den aus Laboratoriumsversuchen gewonnenen Erkenntnissen die in der freien Natur sich im großen abspielenden Umsetzungen ohne weiteres erklären zu wollen. Wir müssen im Gegenteil bestrebt sein, in diesen Versuchen den natürlichen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen.

Für die Möglichkeit einer unmittelbaren Entbindung elementaren Stickstoffes aus den Eiweißkörpern bei der Fäulnis sprechen einige Versuche. Die Hauptmenge elementaren Stickstroffes, die bei der Fäulnis und vornehmlich bei der Verwesung in Freiheit gesetzt wird, entstammt aber dabei entstehendem Salpeterstickstoff. Man bezeichnet den Vorgang der Verwandlung des Salpeterstickstoffes in elementaren oder oxydierten gasförmigen Stickstoff als

Denitrifikation.

Die Denitrifikationsvorgänge spielen sich hauptsächlich in Salpeterlösungen ab, die mit frischem Tierkot oder mit Stallmist versetzt sind. Die Denitrifikationsmikroben sind in der Natur sehr weit verbreitet und verdanken ihre Ausbreitung gerade den tierischen Exkrementen. Wenn auch ihre Zahl in dem älteren, verrotteten Miste erheblich abnimmt, so sind sie selbst in sehr alten Proben desselben noch lebensfähig erhalten.

Der Verlauf der Denitrifikation ist nun von äußeren Bedingungen sehr abhängig. Von besonderer Bedeutung ist dabei die den verschiedenen Dentrifikationsmikroben neben den salpetersauren Verbindungen gleichzeitig zur Verfügung stehende Kohlenstoffquelle. Im allgemeinen soll dieselbe so beschaffen sein, daß bei ihrer Zerlegung keine größeren Mengen freier Säure entstehen, da nur bei schwach alkalischer Reaktion der Denitrifikationsprozeß energisch verläuft und die entsprechenden Mikroben sich gut vermehren. Dementsprechend erweisen sich die Salze organischer Säuren, insonderheit der Apfel- und Zitronensäure, als die günstigsten Kohlenstoffquellen.

Aus demselben Grunde sind die Kohlehydrate und Alkohole im allgemeinen für den Denitrifikationsprozeß weniger günstig. Bei ihrer Aufspaltung entstehen eben die Mikroben schädigende freie organische Säuren. Allerdings muß gleich bemerkt werden, daß es auch Ausnahmen gibt. Eine besondere Stellung unter den Denitrifikationsbakterien nimmt der Thiobacillus denitrificans ein, den Beijerinck eingehend untersuchte. Diese Bakterie benutzt als Kohlenstoffquelle bei sonstiger reiner anorganischer Nahrung die Kohlensäure und denitrifiziert das dem Nährboden zugesetzte Kaliumnitrat kräftig, sofern ihr auch freier Schwefel zur Verfügung steht. Hier soll der Vorgang der Stickstoffentbindung nach Beijerinck entsprechend den Formeln vor sich gehen:

$$6\ KNO_3 + 5\ S + 2\ CaCO_3 = 3\ K_2SO_4 + 2\ CaSO_4 + 2\ CO_2 + 3\ N_2$$

Die Analyse ergibt allerdings eine bedeutend größere Menge freien Stickstoffes, als verbrauchtem Schwefel nach der obigen Formel entspricht. Beijerinck will nun dieses Plus an Stickstoff auf Denitrifikationsprozesse beziehen, die sich auf Kosten toter organischer Substanz (tote Bakterienleiber) abspielen.

Als Stickstoffquelle für die denitrifizierenden Mikroorganismen kommen alle möglichen Stickstoffverbindungen in Frage, soweit es sich um den Aufbau ihrer Leibessubstanz handelt. Der Denitrifikation unterliegt, wie schon einleitend bemerkt, der Nitrat- und Nitritstickstoff, der in vielen Fallen auch als alleinige Stickstoffquelle fungieren kann; dann wird eine erhebliche Menge desselben assimiliert, also im Bakterieneiweiß gebunden.

Als Endprodukt der Denitrifikation sehen wir entweder das Auftreten von elementarem Stickstoff allein, oder daneben noch die Bildung von Stickoxydul und Stickoxyd, oder endlich die letztgenannten gasförmigen Stickstoffverbindungen im Vordergrund.

Die Abspaltung des elementaren Stickstoffes aus Nitriten oder Nitraten können wir mit Löhnis zweckmäßig als direkte Denitrifikation bezeichnen und von der indirekten trennen, bei der oxydierter Stickstoff in großer Menge entbunden wird.

Die direkte Denitrifikation liefert sehr viel elementaren Stickstoff, der aus einer Reduktion des Nitrates und Nitrites entsteht. Ob es sich dabei um eine Reduktion handelt, die auf Kosten des Kohlenstoffes einer besonderen Kohlenstoffquelle durchgeführt wird, oder um eine Wasserstoffreduktion oder beider in den verschiedenen Stadien des Vorganges, wissen wir nicht sicher; die Ansichten der einzelnen Forscher gehen darin auseinander.

Nach Beijerinck soll übrigens die Reduktion immer über das Nitrit und Stickoxydul nach folgenden Formeln verlaufen, wobei C den Kohlenstoff einer spaltbaren Kohlenstoffquelle bedeutet;

$$2\ NO_3K + C \ldots = 2\ NO_2K + CO_2$$
$$2\ NO_2K + C \ldots = N_2O + CO_3K_2$$
$$2\ N_2O \ + C \ldots = 2\ N_2 + CO_2$$

Nach der Anschauung von Franzen und Löhmann soll es sich bei der Entbindung des elementaren Stickstoffes um eine katalytische Zersetzung des gebildeten salpetrigsauren Ammons handeln.

Als direkt denitrifizierend wurde eine Reihe von Bakterienarten erkannt, von denen hier die wichtigsten samt ihren Fundorten genannt seien.

Nur Nitritite denitrifizierend:

Bacillus denitrificans I, Burri u. Stutzer . . .	aus Stroh, Erde und Pferdemist.
Bacillus praepollens Maßen	„ Menschenfäzes.

Nitrate denitrifizierend:

Bacillus denitrificans II, Burri u. Stutzer . . .	aus Stroh, Erde, Luft.
Bacillus denitrificans Ampola u. Garino . . .	„ Kuhkot.
Bacillus filefaciens Jensen	„ Verunreinigung einer Reinkultur.
Bacillus Schirokikhi Jensen	„ Pferdemist.
Bacillus centropunctatus Jensen	„ Kuhkot, Meerschweinchenfäzes.
Bacterium nitrovorum Jensen	„ Pferdemist.
Bacillus Hartlebii Jensen	„ Erde.
Pseudomonas pyocyanea	„ Staub, Faulwasser, Erde usw.
Bacillus radiobacter Beijerinck u. Van Delden .	„ Erde usw.
Laktobazillen und Laktokokken	„ bulgarischer Dickmilch (Milchsäurebakterien).
Bacterium Actinopelte, Bacterium lobatum, Bacillus Hensenii } Gran	„ Nordseewasser.
Micrococcus denitrificans Beijerinck	„ aus Gartenerde.
Bacillus nitroxus Beijerinck	„ Ackerstaub, mit dem Eiweißlösungen infiziert werden.

Diese Liste ließe sich noch durch zahlreiche andere mehr oder minder gut beschriebene Denitrifikatoren vervollständigen, die aber der einen oder anderen angeführten Art sehr nahe stehen.

Aus den eingehenden Untersuchungen Beijerincks hat es sich nun ergeben, daß unter geeigneten Züchtungsbedingungen mehr oder minder große Mengen Stickoxydul neben elementarem Stickstoff von einzelnen der oben angeführten Bakterienarten bei der Denitrifikation des Salpeters gebildet werden. Nach unserer obigen Definition würden diese Arten allerdings zu den Erregern der indirekten Denitrifikation gehören. Da die Stickoxydulbildung jedoch vornehmlich in sehr langer Versuchsdauer und nur unter besonderen Bedingungen neben der Ausscheidung elementaren Stickstoffes in den Vordergrund tritt, können wir sie allen Rechtes bei den Erregern der direkten Denitrifikation vorläufig belassen. Übrigens ist das Auftreten von Stickoxydul in größeren oder kleineren Mengen nicht auffallend, wenn der Denitrifikationsprozeß über oxydierten Stickstoff als Zwischenprodukt vor sich geht, wie es aus den oben angegebenen Formeln hervorgeht.

Die direkte Denitrifikation ist ein Prozeß, der bei Anwesenheit von geringen freien Sauerstoffmengen am besten verläuft, wenn auch die Reduktion des Nitrates zu Nitrit davon als unabhängig angesehen werden darf. Die Entbindung freien Stickstoffes hört bei starker Durchlüftung vollständig auf. Der Vorgang gehört im allgemeinen zu den anaëroben Prozessen.

Die günstigste Temperatur liegt für die Denitrifikation zwischen 27 und 37° C und ist natürlich abhängig von dem Temperaturoptimum der im gegebenen Fall vornehmlich tätigen Bakterienart. Die indirekte Denitrifikation liefert als Hauptprodukte der Nitrat- und Nitritzer-

setzung Stickoxydul und Stickoxyd, daneben auch elementaren Stickstoff, Wasserstoff und Kohlendioxyd. Diesen Prozeß lösen zahlreiche Bakterienarten und Sproß- und Schimmelpilze aus. Dabei ist der ungehinderte Zutritt des freien Luftsauerstoffes ohne wesentlich ungünstigen Einfluß auf den Fortgang der Denitrifikation.

Daß eine Stickstoffausscheidung aus organischer Substanz infolge bakterieller Tätigkeit sowohl unter aëroben als auch unter anaëroben Bedingungen auftreten kann, haben wir schon bei der Fäulnis gehört. Diese Vorgänge haben mit der Denitrifikation, wie wir sie umgrenzten, nichts zu tun, obwohl es sich auch um eine Bildung elementaren Stickstoffes handelt. Das Gleiche gilt für die unter Abspaltung von Stickstoff eintretende Ammoniakoxydation, auf die ja möglicherweise die Stickstoffentbindung unter aëroben Bedingungen zurückgeht. Die Oxydation des Ammoniaks könnte nach König entweder mit freiem Sauerstoff nach der Formel: $4\,NH_3 + 6\,O = 6\,H_2O + 4\,N$ oder mit Wasserstoffperoxyd nach der Formel: $2\,NH_3 + 3\,H_2O_2 = 6\,H_2O + 2\,N$ verlaufen. Näheres wissen wir darüber nicht.

In der freien Natur wird die Denitrifikation keineswegs ein einheitlicher Prozeß sein, da ja ein ganzes Heer der verschiedensten Mikroorganismen dabei tätig sein wird und kann. Wir haben es hier wie bei der Fäulnis mit einem sehr gemischten Vorgang zu tun, der von gleichzeitig und nacheinander auftretenden Mikroben unterhalten wird, entsprechend den äußeren Bedingungen und Nahrungsansprüchen der einzelnen dabei beteiligten Arten.

Literatur zur Vorlesung XIV.

Kruse, W., Allgemeine Mikrobiologie. Leipzig 1910.

Hahn, M. u. Spieckermann, A., Die Proteinfäulnis. Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 3, S. 85.

Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, S. 477. Berlin 1910.

Beijerinck, W., Über die Bakterien, welche sich im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle ernähren können. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 11, S. 597, 1903/4.

Ders., Bildung und Verbrauch von Stickoxydul durch Bakterien. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 25, S. 30, 1910.

Franzen u. Löhmann, Beitrag zur Biologie der Mikroorganismen. I. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 63, S. 9, 1909.

Miquel, P., Die Vergärung des Harnstoffes, der Harnsäure und der Hippursäure. Lafars Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 3, S. 71.

Winogradsky, S., Die Nitrifikation. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 3, S. 132.

FÜNFZEHNTE VORLESUNG.

Stickstoffbindung.

Der in der Atmosphäre reichlich vorhandene elementare Stickstoff wird nun durch eine Reihe von pflanzlichen Mikroorganismen gebunden und in dieser Form dem Stickstoffkreislauf über die höhere Pflanze wieder zugeführt.

Im allgemeinen wird dieser Prozeß der Stickstoffbindung zum Teil durch Bakterien und höhere Pilze durchgeführt, die in zahlreichen höheren Pflanzen sich angesiedelt haben, und zum Teil durch niedere pflanzliche, freilebende Organismen.

Wir wollen uns zunächst mit den in den höheren Pflanzen lebenden, stickstoffbindenden Mikroorganismen befassen.

Es ist eine längst bekannte Tatsache, daß nach der Ernte des Klees eine Düngung der betreffenden Felder überflüssig ist, und daß Klee und kleeartige Pflanzen auch auf Äckern ausgezeichnet gedeihen, die nicht nur nicht gedüngt worden sind, sondern vorher durch längere Zeit mit Getreidearten bepflanzt waren. Man trennte in richtiger Erkenntnis der Verhältnisse die Kulturpflanzen in zwei große Gruppen, indem man die Vertreter der Familie Schmetterlingsblütler als Stickstoffmehrer den übrigen Kulturpflanzen, wie Halmfrüchten usw. gegenüberstellte und diese als Stickstoffzehrer bezeichnete. Man beobachtete auch schon sehr früh an den Wurzeln der Stickstoffmehrer größere und kleinere, knöllchenartige Anschwellungen, deren Bedeutung man aber im Laufe der Zeit sehr verschieden deutete und schließlich erkannte, daß gerade sie bei der Stickstoffassimilation einzig und allein wirksam sind. Später fand man in den Knöllchen bakterienartige Einschlüsse. Man bezeichnete die an den Leguminosenwurzeln solche Knöllchen erzeugenden Bodenbakterien kurzweg als

Knöllchenbakterien der Leguminosen.

Die in den Knöllchen vorhandenen Bakterien zeigen eine sehr veränderte Gestalt, weshalb man sie nach dem Vorgange Brunhorsts „Bakterioiden“ nannte. Der genannte Forscher leugnete zwar die Bakteriennatur dieser Gebilde und wollte damit nur die Bakterienähnlichkeit derselben zum Ausdrucke bringen. Trotzdem blieb der Name auch für die formveränderten Bakterien erhalten. Es hat sich in der Folge durch zahlreiche Versuche tatsächlich ergeben, daß die Leguminosen nur mit Hilfe dieser Bakterien, die in ihre Wurzel eindringen und dort die Knöllchenbildung verursachen, in die Lage ver-

setzt werden, den elementaren Stickstoff über dieselben hinüber auszunützen. Fehlen die Bakterien und damit auch die Knöllchen, dann ist auch für sie der Luftstickstoff unzugänglich.

Alle Fragen der Biologie dieser außerordentlich interessanten Bakteriengruppe sind noch keineswegs annähernd beantwortet, obwohl sich zahlreiche Forscher dem Studium derselben mit größter Mühe unterzogen haben. Seitdem es Beijerinck gelungen ist, Knöllchenbakterien auf saurer Papilionaceengelatine in sicherer Reinkultur zu erhalten, haben zahlreiche Untersucher dieselben ebenfalls reingezüchtet und damit Impfversuche an keimfrei aufgezogenen Leguminosenpflänzchen ausgeführt. Die Impfversuche haben nun ergeben, daß die Knöllchenbakterien durch

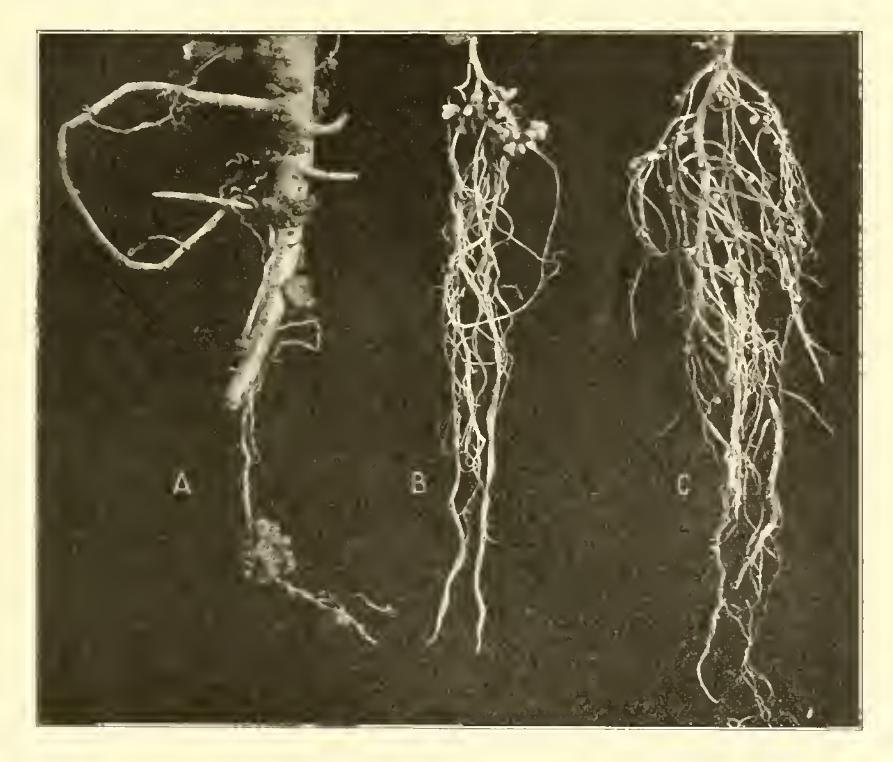


Fig. 68.

die Wurzelhaarspitze in erster Linie ins Wurzelgewebe der noch sehr jungen Leguminose eindringen. Schon nach einigen Tagen sind unter der hirtenstabartig gekrümmten Wurzelhaarspitze bereits Bakterienkolonien mikroskopisch nachzuweisen; unter denselben treten Wandverdickungen mit tüpfelartigen Stellen auf, ein untrügliches Zeichen der stattgehabten Infektion der Pflanze.

Von dort zieht sich dann ein Infektionsfaden weiter. In demselben entwickeln sich in einer stark verschleimten Grundmasse, die von den Bakterien selbst stammt, die eingewanderten Bakterien massenhaft und es entsteht in der Wurzel das Bakterioidengewebe. Offenbar durch Reizwirkung von Seite der Mikroben angeregt, setzt dort eine üppige

Zellteilung der Wurzelzellen ein, wodurch die Knöllchen selbst gebildet werden. Den Vorgang der Infektion kann man an jungen Erbsen- und Wickenpflänzchen gut beobachten, an denen der Infektionsfaden deutlich zu sehen ist, wie Prażmowsky angibt, dem wir diese Beobachtung verdanken. Die Knöllchen erreichen bei den einzelnen Leguminosen eine sehr verschiedene Größe, von wenigen Millimetern bis zu Zentimetern im Durchmesser betragend. In der Figur 68 sind die mit Knöllchen besetzten Wurzeln von drei Leguminosen abgebildet. *A* zeigt uns die Knöllchen einer Lupine, *B* diejenigen von Lathyrus sativus und *C* endlich die Anschwellungen an der Wurzel von Cicer arietinum (Kichererbse). Die Oberfläche der Knöllchen weist ebenfalls große Verschiedenheiten auf. Im allgemeinen bestehen die Knöllchen aus einer mehr oder minder

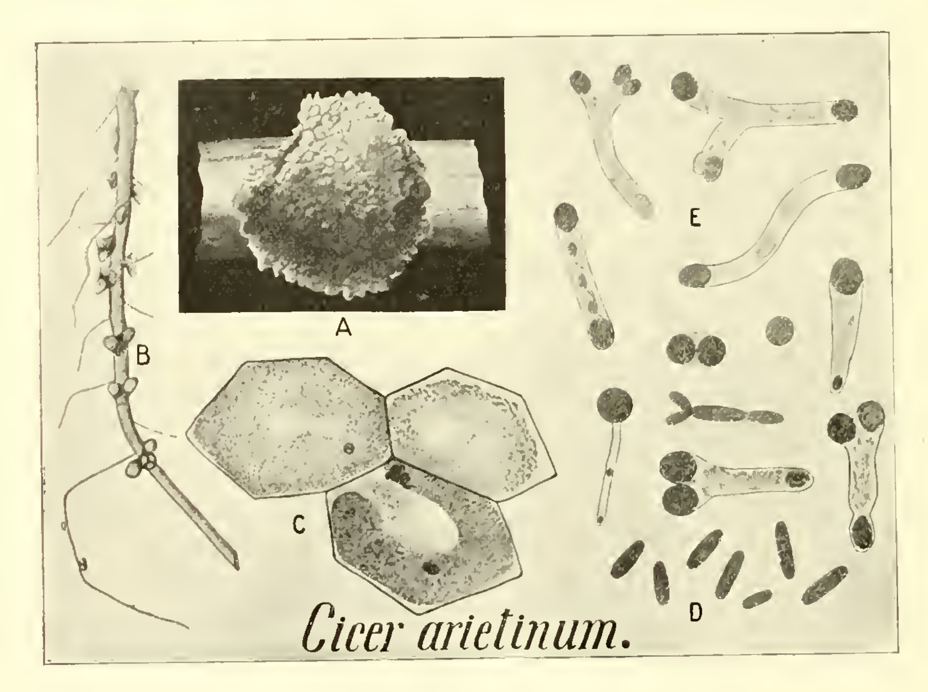


Fig. 69.

großen Anzahl kleiner, untereinander zusammenhängender, sekundärer Knöpfchen, wodurch das hirnartige Aussehen der großen Lupinenknollen bedingt wird. Die Oberfläche der Knöllchen von Cicer arietinum erscheint makroskopisch glatt und glänzend, während dieselbe unter dem Mikroskop sich als sehr feinhöckerig erweist, wie es die Abbildung *A* der Figur 69 erkennen läßt.

Die Verteilung der Knöllchen über die ganze Wurzel ist meist nicht regelmäßig aber charakteristisch. Vielfach sitzen sie nur an den oberen Wurzelteilen in der Nähe der Oberfläche oder sie finden sich auch oft über die ganze Wurzel verteilt. Gewiß liegt hierfür der Grund keineswegs in einer zufälligen Verteilung der Bakterien in der Wurzelnähe oder in einer Produktion von Reizstoffen durch die Pflanze selbst an ganz be-

stimmten Stellen der Wurzel. Kurz nach dem Eindringen der Bakterien scheint die Pflanze gegen weitere Angriffe von Seite derselben durch eine Art Immunisierung geschützt zu werden, weshalb die zuerst einbrechenden Bakterien sich wohl in der Pflanze etablieren, ein weiterer Zuzug und damit eine Bildung neuer Knöllchen aber dadurch verhindert wird.

Das Knöllchen selbst besteht aus dichtgedrängten, polyedrischen Zellen, deren Inneres fast ausschließlich mit Bakterioiden erfüllt ist. *C* der Figur 69 zeigt uns solche Zellen aus einem Schnittpräparat von einem Knöllchen. Hier liegen dichtgedrängt die Bakterien und lassen höchstens im Zentrum einen kleinen Raum frei. Vom Zellplasma ist kaum mehr etwas zu sehen. Nur der Kern fällt in gefärbten Präparaten auf.

Die Bakterioiden sind nun ein besonderer Entwicklungszustand der Leguminosenbakterien, aus dem die gewöhnliche Bakterienform ohne weiteres in geeigneten Nährsubstraten wieder hervorgeht. Es scheint sich um verzweigte und vergrößerte Formen zu handeln, deren Plasma eine andere Beschaffenheit aufweist, als dasjenige der gewöhnlichen Vegetationsform. Wie an den in Figur 69 *E* abgebildeten Bakterioiden der Kichererbse zu entnehmen ist, sondert sich in denselben das Plasma in zwei sowohl färberisch wie durch Jod darstellbare Substanzen. Daß es sich dabei nicht um örtlich zusammengeballte Plasmaklumpen handeln kann, zeigt schon das Verhalten des Inhaltes der Bakterioiden zu Jodlösungen, denn in dem hellgelb gefärbten Plasma mit seinen netzartigen Strukturen liegen tiefbraun tingiert diese runden oder ovalen Körper. Übrigens sollen diese nach Jodbehandlung rotbraunen Granula aus zweierlei Substanzen bestehen, einer plasmatischen Grundlage und einer die Jodreaktion liefernden Substanz, die verbraucht und wieder erneuert wird. Wahrscheinlich steht letztere dem Glykogen nahe.

Dasselbe könnte ja einem ständigen Verbrauch im Haushalte der Bakterioiden unterliegen und dementsprechend immer wieder neugebildet werden, zumal es sich in diesen Zellen um keine Involutionsformen handelt, sondern um lebensfrische Organismen. Eine Vermehrung der Bakterioiden durch Teilung derselben zu neuen Bakterioiden ist wohl nach den neuesten Untersuchungen ausgeschlossen. Trotzdem kann dieselbe über die vegetative Stäbchenform derselben ganz gut erfolgen, da es sich ergeben hat, daß aus den verzweigten Formen unmittelbar Vegetationszellen von gewöhnlicher Gestalt hervorgehen, die in *D* der Figur 69 wiedergegeben sind. Man könnte sich den Vermehrungsvorgang im Knöllchen so vorstellen, daß nach einer gewissen Zeit aus den Bakterioiden Vegetationsformen entstehen, die sich einigemale teilen. Die Tochterzellen gehen dann wieder in die Bakterioidenform über.

Wie schon einigemale angedeutet, vegetieren die Knöllchenbakterien außerhalb des Knöllchens im Boden in Form gewöhnlicher Stäbchenbakterien. Die gelungenen Reinkulturen derselben enthalten meist auch in der überwiegenden Mehrheit die Vegetationsform, wenn nicht besondere Züchtungsverfahren eingeschlagen werden. Im allgemeinen ist die Kultur dieser Bakterien nicht schwierig. Sie wachsen zwar auf den meisten gebräuchlichen Nährsubstraten mit Ausnahme der Kartoffel schlecht oder gar nicht, doch gut, wenn Gelatine oder Agar mit Auszügen oder Abkochungen von Leguminosenpflanzen, -Samen oder -Wurzeln zu Nährsubstraten verarbeitet wird. Die Reaktion dieser Nährsubstrate kann schwach alkalisch oder leicht sauer sein. Wenn darauf von den frischen,

äußerlich möglichst keimfrei gemachten und dann zerquetschten Knöllchen verimpft wird, entstehen nach 2—6 Tagen weißliche durchscheinende, mikroskopisch sichtbare Auflagerungen, die in kurzer Zeit sehr stark verschleimen. Dieselben bestehen aus kleinen Stäbchenbakterien, die sich, im hängenden Tropfen untersucht, teils als gut beweglich erweisen. Es scheint eine peritriche Begeißelung derselben vorzuliegen. Das Temperaturoptimum der Knöllchenbakterien liegt etwa bei 18—22° C. Gegen höhere Temperaturen sind sie sehr empfindlich und werden durch sie rasch getötet. Sporenbildung konnte bei ihnen bisher nicht beobachtet werden.

Die Knöllchenbakterien verursachen in den künstlichen Nährsubstraten keine besonders tiefgehenden Umsetzungen. Es findet allerdings eine Säurebildung aus Kohlehydraten statt, wodurch die Kaseinfällung in Milchkulturen dieser Bakterien bedingt zu sein scheint. Indolbildung fehlt in den Zuchten dieser Mikroben. Zugesetzter Salpeter wird in geringer Menge bis zu Nitrit reduziert. Eine Ammoniakbildung ist nicht festzustellen.

Die Knöllchenbakterien gehören zu den aëroben Organismen; die Kardinalpunkte für die Sauerstoffspannung sind noch nicht untersucht.

Man hat nun auch die Bakterioidenbildungen außerhalb der Leguminose in Reinkulturen untersucht und eine Reihe von Stoffen gefunden, die dieselben in mehr oder minder ausgesprochener Weise hervorzurufen befähigt sein sollen. Auch die in Kulturen sich anhäufenden eigenen Stoffwechselprodukte führen zu Gestaltsveränderungen, die an Bakterioiden erinnern. Ob diese durch Zusätze von organischen Säuren, Asparagin, Pepton usw. in Verbindung mit Traubenzucker und anderen Kohlehydraten, dann von Auszügen aus Leguminosensamen usw. hervorgerufenen Formen in allen Punkten echten Bakterioiden entsprechen, mag dahingestellt bleiben. Formveränderungen lassen sich damit aber sicher erzielen, die bei Verwendung gleicher Stoffe auf Knöllchenbakterien aus verschiedenen Leguminosen verschieden ausfallen. So hat es sich auch gezeigt, daß die Form der aus Sojabohnen gezüchteten Bakterien durch Lävulose bedeutend stärker verändert wurde, als diejenige der Erbsenbakterien, was für einen Artunterschied beider Bakterienarten spricht.

In der Figur 70 sind Formen abgebildet, die die aus den Knöllchen der Sojabohnen gezüchteten Bakterien in Lösungen verschiedener Stoffe, wie Dextrose allein und in Verbindung mit Asparagin, Kaliumphosphat oder Salpeter in verschiedenen Konzentrationen nach bestimmter Zeit aufweisen. Auffallend ist hier besonders die eigenartige Plasmadifferenzierung neben den Auftreibungen oder „Aussprossungen".

Die neuesten Untersuchungen von Zipfel haben nun ergeben, daß es gelingt, auch auf festen Nährsubstraten wachstumsfähige Bakterioiden aus der Vegetationsform von Legumniosenbakterien zu züchten. Dabei scheinen die vorher genannten Stoffe allerdings recht bedeutungslos zu sein. Nur einige wenige, niedere Abbauprodukte der Eiweißkörper sind dazu aber besonders befähigt. In erster Linie bewirkt das **Koffein**, in einer Menge von 0,2—0,4 Prozent dem Leguminosenagar oder der Gelatine zugesetzt, die Bakterioidenbildung. Das Wachstum der darauf verimpften Bakterien verlief allerdingssehr langsam. Man findet aber nach einiger Zeit ausschließlich verzweigte, typische Bakte-

rioidenformen, die, auf koffeinfreie Nährböden übertragen, sich als normale Stäbchen weiterentwickeln.

Zwei andere Methylxanthine, Theobromin und Theophyllin, brachten in kleinen Dosen keine Bakterioidenbildung hervor, während sie in größeren Gaben jedwedes Wachstum unterdrückten.

Die Artenfrage ist bei den Knöllchenbakterien noch keineswegs gelöst. Man schied dieselben in zwei Gruppen, die man als Rhizobium radicicola und Rhizobium Beijerinckii bezeichnete.

Rhizobium radicicola umfaßt nach Hiltner und Störmer die Knöllchenbakterien von Pisum, Lathyrus, Vicia, Phaseolus, Trifolium, Medicago, Anthyllis, Onobrychis und Robinia. Es soll eine wechselseitige Verimpfung der von einer Art stammenden Bakterien auf



Fig. 70.

die anderen Arten mit Erfolg durchgeführt worden sein und überdies große morphologische Übereinstimmung der aus den genannten Leguminosen gezüchteten Mikroben vorliegen.

Rhizobium Beijerinckii schließt die aus Lupinus, Ornithopus und Soja kultivierten Knöllchenbakterien ein. Eine erfolgreiche Infektion der normal von Rhizobium radicicola bewohnten, oben genannten Leguminosen soll mit Rhizobium Beijerinckii ebensowenig gelingen, wie der umgekehrte Versuch. Maaßen und Müller wollen eine noch größere Spezifizität der Knöllchenbakterien festgestellt haben und trennen sie in fünf Gruppen.

Kürzlich veröffentlichte Zipfel eingehende Versuche der Artbestimmung unter Zuhilfenahme von Agglutininreaktionen. Wenn man

Tieren eine Bakterienart in einer Dosis unter die Haut spritzt, die sie ohne Schaden vertragen, so entstehen im Tierkörper unter anderen spezifisch wirkende Stoffe, welche auf die Zellen derjenigen Bakterienart zusammenballend oder agglutinierend wirken, die zur Impfung benutzt wurde. Man bezeichnet diese Stoffe, die sich besonders nach wiederholten Einspritzungen in erheblicher Menge im Blutserum ansammeln, als Agglutinine. Dieselben wirken also artspezifisch und nur in geringerem Grade auf artverwandte Mikroorganismen. Deshalb sind diese Reaktionen für die Entscheidung der Artzugehörigkeit von großem Werte.

Wenn nun Zipfel Kaninchen mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien der Erbse durch Einspritzungen unter die Haut vorbehandelte, so erhielt das Kaninchenblutserum im hohen Grade die Fähigkeit, auch noch in großen Verdünnungen die aufgeschwemmten Knöllchenbakterien der Erbse zu verkleben oder zu agglutinieren. Die folgende Zusammenstellung gibt die wichtigsten Versuchsresultate wieder. Das + Zeichen bedeutet, daß in der angegebenen Verdünnung nach 24 Stunden ausgiebige Agglutination, also grobe Zusammenballung der Bakterien und daher Klärung der Emulsion eingetreten war. Bei allen Versuchen wurde 1 ccm Kulturaufschwemmung mit 1 Tropfen des entsprechend verdünnten Serums (1:100, 1:1000, 1:4000 und 1:10000) versetzt. Die Kontrollversuche mit gleich verdünntem Serum nicht vorbehandelter Kaninchen fielen sämtlich negativ aus, gaben also keine Agglutination.

1 ccm Aufschwemmung der rein gezüchteten Knöllchenbakterien aus:	1 Tropfen des mit Chlornatriumlösung verdünnten Blutserums des mit Erbsenbakterien vorbehandelten Tieres in dem Verhältnis von:			
	1 : 100	1 : 1000	1 : 4000	1 : 10 000
Pisum sativum	+	+	+	+
Vicia faba	—	—	—	—
Phaseolus vulgaris . . .	+	+	+	+
Trifolium pratense . . .	—	—	—	—

Aus der Zusammenstellung geht hervor, daß das Serum des mit Knöllchenbakterien der Erbse vorbehandelten Kaninchens selbst noch in einer Verdünnung von 1:10000 die Knöllchenbakterien der Erbse und diejenigen der Bohne zu agglutinieren vermag, während es aber auch in viel höheren Konzentrationen auf die Knöllchenbakterien der Pferdebohne und des Rotklees überhaupt nicht wirkt. Dies spricht sehr für die Identität der Knöllchenbakterien der Erbse und Bohne. Nach diesen erst auf wenige Knöllchenbakterien ausgedehnten Versuchen dürfte es sich doch herausstellen, daß für die Knöllchenbildung bei den verschiedenen Leguminosen mindestens mehrere Arten von Bakterien in Frage kommen, die zwar in morphologischer Hinsicht große Ähnlichkeit aufweisen.

Wir haben gehört, wie die Knöllchen der Leguminosen entstehen und welche Bakterien dabei beteiligt sind. Nunmehr müssen wir uns der Tätigkeit der Bakterioiden in den Knöllchen und dem Verhältnis zwischen der Pflanze und den Knöllchenbewohnern zuwenden.

Daß die Leguminosen nur mit Hilfe ihrer Knöllchen den elementaren Stickstoff zu assimilieren vermögen, kann mit voller Berechtigung nach allen einwandfreien Versuchen als sichergestellt gelten. Ebenfalls Tatsache ist es, daß diese Stickstoffassimilation über die Bakterioiden hinüber vor sich geht; dieselben sind ja auch massenhaft in den Knöllchen vorhanden. Die Einzelheiten des Vorganges selbst kennen wir aber heute noch nicht und können über dieselben nur mehr oder minder wahrscheinliche Vermutungen äußern. Sicher wissen wir nur, daß der Beginn der Stickstoffassimilation bei den Leguminosen mit der Umwandlung der Knöllchenbakterien in die Bakterioiden zeitlich zusammenfällt und die Stickstoffaufnahme durch die Pflanze nicht von einem Zerfall der Bakterioiden begleitet ist. Die verschwindend kleine Stickstoffmenge der zerfallenen und etwa resorbierten Bakterioiden könnte auch niemals zu dem großen Stickstoffgewinn der Pflanze führen, der tatsächlich zu verzeichnen ist. Der Vorgang der Assimilation des elementaren Stickstoffes muß so gedacht werden, daß nur die Bakterioiden in den Knöllchen denselben aufnehmen und in noch unbekannte Stickstoffverbindungen umwandeln, die der Pflanze in gelöster Form als Nahrung dienen. Die Bakterioiden müssen wir uns als Zellen vorstellen, die sich in dem Knöllchen allerdings nicht zu vermehren vermögen, aber außerodentlich kräftig freien Stickstoff aufnehmen, daraus ihren eigenen Bedarf für das Leben decken und den Rest in der Pflanze zugängliche Stickstoffverbindungen umsetzen.

Ein großer Teil der Forscher will in dem Verhältnis der Leguminose zu den Bakterioiden und umgekehrt ein typisches Beispiel der Symbiose erblicken. Wenn wir unter Symbiose im weitesten Sinne des Wortes überhaupt ein Zusammenleben zweier oder mehrerer Organismen auffassen, hat es allerdings hier eine Berechtigung. Dann müssen wir aber auch nach dem Vorgange von Pfeffer den Parasitismus usw. als Symbiose ansehen. Die Knöllchenbakterien verhalten sich bei der Infektion der jungen Leguminose wie echte Parasiten. Nachdem sie wahrscheinlich mit Hilfe eines besonderen, vielleicht enzymartigen Stoffes die Membran der Scheitelzelle des Wurzelhaares gelöst haben, dringen sie ein. Den nun einstürmenden Bakterien sucht sich die Pflanze mit allen Mitteln zu erwehren. Bei jungen kräftigen Pflanzen kommen die Bakterien in eine schlimme Lage, denn bevor sie sich noch in die anscheinend widerstandsfähigeren Bakterioiden umgeformt haben, verfallen sie der Resorption. Dies trifft besonders dann zu, wenn die Knöllchenbakterien der betreffenden Leguminose nicht genügend angepaßt sind. In der Anpassung der Knöllchenbakterien können wir mit gutem Grund eine verschieden stark ausgebildete Widerstandsfähigkeit, Empfindlichkeit der Bakterien selbst gegen die pflanzlichen Schutzstoffe erblicken. Die Größe dieser Anpassung gibt uns auch ein Maß ihrer Virulenz. Nach Hiltner kann man den Virulenzgrad folgendermaßen abstufen:

1. Die Bakterien vermögen überhaupt nicht in die Wurzel einzudringen. In diesem Falle dürfte der für die betreffende Leguminose anscheinend spezifische Angriffsstoff der Knöllchenbakterienart fehlen.

2. Die Bakterien vermögen zwar in das Wurzelhaar einzudringen, verfallen jedoch bei der Ausbildung des Infektionsschlauches in kürzester

Zeit der Aufsaugung durch die Pflanze. Dabei kommt es mitunter zu geringen Wurzelanschwellungen, die aber alsbald wieder verschwinden.

3. Den Bakterien gelingt die Infektion und die Knöllchenbildung vollkommen, doch vor ihrer Umformung in die Bakterioiden werden sie von der Pflanze resorbiert. Die Wurzel behält in diesem Falle die unwirksamen Knöllchen, welche an Lupinen und anderen Leguminosen beobachtet wurden.



Fig. 71.

4. Die Bakterien wandern ein, bilden die Knöllchen und wandeln sich in ihnen in die Bakterioiden um. Es ist dies sozusagen das normale Vorkommnis.

5. Die Umwandlung der eingewanderten und nun in den Knöllchen sitzenden Bakterien erfolgt nur sehr langsam, wodurch die Pflanze eine länger andauernde Schädigung erfährt.

6. Die Bakterien bleiben dauernd Parasiten der Pflanzen und schädigen sie fortwährend, weil sie sich nicht in den Zustand der avirulenten Bakterioiden begeben. Es kommt so zu einer Bakterienüberwucherung der Wurzel.

Aus alledem entnehmen wir, daß es sich zumindest bei der Infektion um ein Kampfverhältnis zwischen Leguminose und Bakterium handelt, das dauernd werden und in dem die Pflanze oder der Mikroorganismus Sieger bleiben kann. Außerdem wird der Mikroorganismenart anscheinend in der Wurzel kein besonderer Vorteil von Seite der Pflanze gewährt und normalerweise zieht letztere aus dem Zusammenleben den Nutzen; man wollte denn behaupten, daß der Bakterioidenzustand ein für die Art unbedingt notwendiges Entwicklungsstadium sei, das sie zur Erhaltung der Art durchlaufen und dazu in das Knöllchen gelangen muß. Diese Möglichkeit wurde aber noch nicht experimentell geprüft.

Auch an den Wurzeln von Nichtleguminosen hat man vielfach Knöllchenbildungen beobachtet. Besonders die Erle zeigt solche in großer Anzahl und von beträchtlicher Größe. In Figur 71 ist ein Stück von einer Erlenwurzel in seiner natürlichen Größe photographiert. Man sieht hier gut die zahlreichen, maulbeerförmigen Anschwellungen. Diese Erlenknöllchen entstehen ebenfalls auf eine Pilzinfektion hin, unter der anfangs die Pflanze kurze Zeit erkrankt. Der Pilz selbst ist noch keineswegs genügend erforscht, da unter den Untersuchern sogar noch Meinungsverschiedenheiten darüber herrschen, ob derselbe den höheren Pilzen zuzurechnen ist oder den Bakterien. Die Fähigkeit der Stickstoffsammlung durch Alnus mit Hilfe der Wurzelknöllchen ist experimentell einwandfrei erwiesen. Selbst in der Natur scheinen die Erlen eine wichtige Rolle bei der Bindung des elementaren Stickstoffes zu spielen.

Knöllchen fand man noch an den Wurzeln zahlreicher anderer Pflanzen, wie Elaeagnus angustifolius (Ölweide), Cycadeen u. a.

Eine ständige innere oder äußere Verpilzung von Pflanzenwurzeln ohne Ausbildung von knöllchenartigen Anschwellungen beobachtet man häufig und bringt auch hier den Pilz mit der Ernährung der betreffenden Pflanze in Verbindung. Solche Pflanzen mit „Pilzwurzeln“ oder **Mykorrhizen** sind die Orchideen, der Fichtenspargel, die Kiefer und andere. Der Pilz kann nun außen die Wurzel umspinnen und in die obersten Schichten derselben eindringen oder das Innere der Wurzel mit seinen Fäden erfüllen. Im ersteren Falle spricht man von ektotropher Mykorrhiza, in letzterem von endotropher Mykorrhiza. Diese findet sich in erster Linie bei den Orchideen. Die Untersuchungen der Mykorrhizen haben nun ergeben, daß die Pilze tatsächlich für die Gesamternährung der betreffenden Pflanzen von einschneidender Bedeutung sind und in vielen Fällen auch die Fähigkeit besitzen, elementaren Stickstoff in assimilationsfähiger Form der Pflanze zuzuführen.



Fig. 72.

In der folgenden Abbildung 72 ist die Photographie des Wurzelstockes von Neottia Nidus avis in annähernd natürlicher Größe wiedergegeben. Die einzelnen dicken und stumpfen Wurzeln sind im Innern von Pilzen durchsetzt. Wir haben also eine endotrophe Mykorrhizia vor uns. In einem Querschnitt durch eine solche Pilzwurzel sehen wir eine Menge von polygonalen Zellen, die von einem dichten Flechtwerk der Hyphen des betreffenden Pilzes erfüllt sind, während wieder andere Zellen den Pilz in zusammengebackenem und verquollenem Zustand enthalten. Wieder in anderen Zellen sieht man vom Pilzgeflecht überhaupt nicht mehr viel. Figur 73 zeigt nun einen solchen Schnitt durch die Neottia-Wurzel bei stärkerer Vergrößerung. In dieser Figur sehen wir in einigen Zellen (*a*) die Hyphengeflechte in noch gut erhaltenem Zustande, während andere Zellen (*b*) dieselben als Klumpen in Zersetzung begriffen enthalten. Allem Anschein nach wird der Pilz von der Pflanze resorbiert und liefert so die Nahrung. Der Orchideenpilz ist ein höherer Pilz und hat mit den Bakterien nichts zu tun. Das Gleiche gilt auch für die übrigen Mykorrhizen, die ebenfalls durch höhere Pilze hervorgerufen werden.

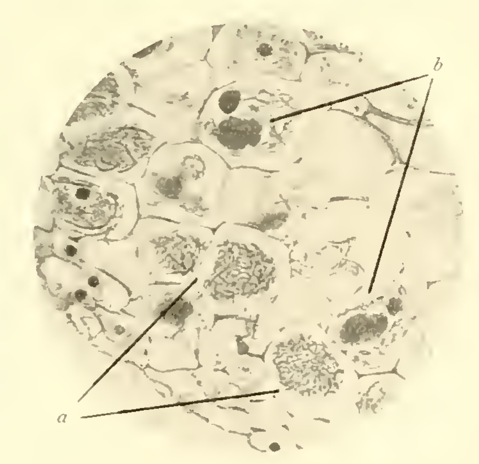


Fig. 73.

Eine große Menge elementaren Stickstoffes wird auch durch frei im Boden lebende Mikroorganismen gebunden und in Mikroorganismenleibessubstanz und wahrscheinlich auch andere stickstoffhaltige Verbindungen verwandelt. Die Verbreitung solcher frei lebender Stickstoff bindender Bakterienarten ist enorm. Wir finden sie in jeder Bodenprobe, sei es von bebautem Ackerland oder Sanddünen, einerlei aus welchem Erdteil. Man hat anaërobe und aërobe, sporenbildende und sporenlose Bakterienarten als kräftig Stickstoff bindend erkannt. Es würde zu weit führen, hier alle beschriebenen Formen aufzuführen, weshalb nur die wichtigsten Typen kurz skizziert seien.

Im Laufe der Zeit wurden unter verschiedenen Namen eine Reihe von stickstoffbindenden Clostridien beschrieben, die samt und sonders Glykogen und Iogen speichern und auch in ihren sonstigen biologischen und morphologischen Eigenschaften nur so wenig voneinander abweichen, daß wir dieselben nach den verdienstvollen Untersuchungen Bredemans und seiner Mitarbeiter mit guten Rechte als Varietäten einer Spezies, des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann auffassen dürfen. Wir haben die Morphologie desselben zum größten Teil schon früher kennen gelernt, weshalb hier nur dessen Biologie noch ergänzend kurz behandelt werden soll. Die Amylobakterstämme begnügen sich mit sehr einfachen Stickstoffquellen in verschwindend kleiner Menge, gedeihen aber auch mit komplizierten organischen Stickstoffverbindungen. Unter bestimmten Bedingungen und bei der Darreichung einer passenden Kohlenstoffquelle entwickeln sie sich auch in einer stickstoffreien Nährlösung, wenn ihnen elementarer Stickstoff zur Verfügung steht. Wie wir schon gesehen haben, wachsen sie nur in einer außerordentlich niederen Sauerstoffspannung, obgleich es auch gelingt sie im offenen Kolben zu züchten, wenn die Flüssigkeitsschicht nicht allzu dünn und die Einsaat groß ist. Für sie sind gallertige oder feste Nährsubstrate günstiger als flüssige. Ihr Temperaturoptimum für das Wachstum liegt bei etwa 30° C; sie gedeihen aber bei Zimmertemperatur auch noch ausgezeichnet. In zuckerhaltigen Nährsubstraten zersetzen sie Dextrose usw. unter heftigen Gärerscheinungen, indem sie an gasförmigen Produkten reichlich Kohlendioxyd und Wasserstoff entwickeln, an flüchtigen Säuren, hauptsächlich Buttersäure und daneben in mehr oder minder großen Mengen Propion-, Essig- und Ameisensäure, was bis zu einem gewissen Grade vom Ausgangsmaterial abhängig ist. Es entstehen bei der Amylobaktergärung auch eine Reihe von Alkoholen, von denen nach Bredemann vornehmlich in Betracht kommen können: Äthylalkohol, Isopropylalkohol, primärer Propylalkohol, primärer Isobutylalkohol, primärer Normalbutylalkohol und außerdem noch einige Pentylalkohole vom Siedepunkt 102,5—137° C. Nach denselben eingehenden und sehr lesenswerten Untersuchungen soll übrigens zwischen der Größe der Stickstoffbindung und der vergorenen Zuckermenge und der daraus hervorgehenden Menge flüchtiger Säuren keine bestimmte Beziehung bestehen. Trotzdem müssen bei der Stickstoffbindung der Bakterienart genügende Mengen von Kohlehydrat zur Verfügung stehen. Häufig kommt neben der Amylobakterart eine Begleitbakterie vor, die vielleicht in der freien Natur die für die Stickstoffbindung bzw. ihren Erreger passende Kohlenstoffquelle aus schwer zugänglichen Kohlenhydraten herstellt. So haben die Pringsheimschen Versuche ergeben, daß das Clostridium

americanum, ebenfalls eine Amylobakterart, in Kulturen mit Zellulose zersetzenden Bakterien, Gärungsprodukte der letzteren als Kohlenstoffquelle benutzt und dabei kräftig Stickstoff bindet.

Speziell die Fähigkeit der Stickstoffbindung scheint eine Eigenschaft zu sein, die in künstlicher Kultur in kurzer oder längerer Zeit erheblich geschädigt wird, während die Sporen dieser Bakterienarten selbst nach langer Ruhe Vegetationsstäbchen mit ungeschwächten stickstoffbindenden Eigenschaften ergeben. Die verminderte oder gänzlich verloren gegangene Stickstoffbindungsfähigkeit kann bei den Amylobakteren nach den Untersuchungen von Bredemann durch „Erdpassagen", also Züchtungen in Erde oder auch Erdextrakten wieder rasch regeneriert werden. Das Gleiche gilt auch für die gleich zu besprechende Gruppe Bacillus asterosporus.

Als Typus einer anderen Gruppe von Stickstoff bindenden Bakterienarten kann der schon öfter genannte Bacillus asterosporus gelten, der ebenfalls auf der Erde weit verbreitet vorkommt. Es handelt sich hier um fakultativ anaërobe Bakterienarten, zu denen auch Granulobacter polymyxa, reptans und sphaericum zu rechnen sind. Wir kennen die Morphologie von früheren Besprechungen her ebenfalls schon ziemlich genau, wenigstens die wichtigsten Daten daraus. Auch die Vertreter der Asterosporusgruppe sind sehr genügsame Bakterienarten, die selbst in der stickstoffreien Nährlösung von Winogradsky gedeihen, die nur Dikaliumphosphat, Magnesiumsulfat, Chlornatrium, Mangan und Eisensulfat neben einer passenden Kohlenstoffquelle in sehr geringer Menge enthält. Sie sind gasbildende, stark gärende Bakterienarten, die beispielsweise aus Dextrose oder Rohrzucker, Kohlensäure und Wasserstoff, dann flüchtige Säuren, vornehmlich Essigsäure, etwas Ameisensäure und wahrscheinlich geringe Mengen einer Säure von hohem Molekulargewicht, und noch Körper aldehydartiger Natur bilden.

Eine dritte Gruppe von weit verbreiteten Bakterienarten bilden die zahlreichen „Azotobakterarten", von denen Azotobacter chroococcum, von Beijerinck schon genauestens studiert, wohl am intensivsten Stickstoff bindet. Die Zellen desselben sind sehr groß und haben eine elipsoidische bis kugelförmige Gestalt mit einem Durchmesser bis 6 μ. Wenn sie schwärmen, bewegen sie sich mit einer Geißel. Sie gedeihen am besten mit geringen Mengen von einfachen Stickstoffquellen in Verbindung mit besonderen Kohlenstoffquellen. Als letztere erweisen sich sehr günstig Mannit, Rohzucker und Traubenzucker, dann Arabinose und Xylose, die aus Pektinen immer in großen Mengen in die Erde kommen, am wenigsten brauchbar die Salze organischer Säuren. Auch Spaltungsprodukte der Zellulose scheinen sehr zugängliche Kohlenstoffquellen bei kräftiger Stickstoffbindung zu sein, da letztere dann besonders ausgiebig erfolgt, wenn Azotobakter in Mischkulturen mit Zellulosezersetzern bei Gegenwart von Zellulose gezüchtet wird. Auch die Humusstoffe befördern die Stickstoffbindung ganz hervorragend. In dieser Hinsicht erweisen sich die einzelnen Humate aber sehr verschieden. Am besten wirken die natürlichen des Bodens. Daneben muß aber noch eine besondere Kohlenstoffquelle vorhanden sein, da die Humate anscheinend von der Bakterienart nicht angegriffen werden, zumal sie weder ihren Kohlenstoff- noch ihren Stickstoffbedarf daraus zu decken vermag. Wie diese Stoffe wirken, ist derzeit nicht bekannt. Wie bei den vorgenannten

Gruppen stickstoffbindender Bakterien Zusätze von Erde oder Erdextrakten die Stickstoffausbeute fördern, so geschieht es auch hier. Aus der fol genden kleinen Zusammenstellung, die verkürzt unter Berechnung von abgerundeten Mittelwerten nach den Untersuchungen von Krzemieniewski wiedergegeben ist, kann man den Einfluß der Erd- und Humuszusätze deutlich ersehen.

Impfmaterial, Kohlenstoffquelle und Zusätze:	N-Gewinn für 1 g verbrauchte Kohlenstoffquelle mg
Reinkultur von Azotobacter + pasteurisierte Erde + Mannit . . .	10,3
Kahmhaut in Mannitnährlösuug	8,1
Reinkultur von Azotobacter + sterilisierte Erde + Mannit	5,9
„ „ „ + „ „ + Traubenzucker .	7,4
„ „ „ + Mannit	0,4
„ „ „ + Traubenzucker	2,0
„ „ „ + Mannit + Kaliumhumat	10,1
„ „ „ + „ + Natriumhumat	10,9
„ „ „ + „ + Humat aus Zucker . . .	2,9
„ „ „ + Traubenzucker + Kaliumhumat . .	12,0
„ „ „ + „ + Kalziumhumat . .	9,1

Azotobakter ist eine luftbedürftige Bakterienart, deren Temperaturoptimum um 28° C liegt. Eine eigentliche Sporenbildung wurde bei derselben nicht beobachtet, doch umhüllen sich meist mehrere Zellen mit einer Art besonderer Kapsel, indem die äußeren Partien der ohnehin immer schleimigen Zellhaut fester werden. Es scheint, daß sich die Tochterzellen nach der Teilung nicht weiter von einander entfernen und so Pakete bilden. In denselben halten die Zellen das Austrocknen gut aus und bleiben lange lebensfähig. Man findet dieses Entwicklungsstadium in den älteren, bereits braun gewordenen Kolonien dieser Bakterienart. Von Beijerinck und von Van Delden und anderen wurden noch mehrere Azotobakterarten aus verschiedenen Erdproben und Kanalwasser gezüchtet, die ebenfalls stickstoffbindende Eigenschaften besitzen. So ist zu nennen Azotobacter agile Beijerinck-Van Delden, welches unter geeigneten Züchtungsbedingungen einen wasserlöslichen grün fluoreszierenden Farbstoff erzeugt; dann Azotobacter vinelandii Lipman, Azotobacter vitreum Löhnis und Westermann usw.

Außer den bereits genannten drei Bakteriengruppen kommen für die Stickstoffbindung noch zahlreiche andere Bakterienarten in Frage, auf die wir nicht im besonderen eingehen können. Es sei nur kurz an Vertreter der Gruppe „Bacterium pneumoniae Friedländer“ erinnert, die ebenfalls kräftig Stickstoff fixieren. Hierher gehören auch die Vertreter der Gattung Radiobakter Beijerinck. Außerdem gibt es eine Reihe von Bakterienarten, die gelegentlich und unter besonderen Züchtungsverhältnissen elementaren Stickstoff assimilieren, wie z. B. ein Stamm von Pseudomonas pyocyanea bei der Kultur in sehr stickstoffarmen Nährlösungen mit Salzen organischer Säuren Stickstoff fixierte.

Nach den Untersuchungen von Löhnis und Pillai haben zahlreiche Kugel- und Stäbchenbakterie in einem Zeitraum von 3 Wochen in 100 ccm

Bodenextraktzuchten mit 1 Proz. Mannit oder Traubenzucker mitunter nicht unerhebliche Stickstoffernten ergeben, wie aus der untenstehenden Zusammenstellung hervorgeht:

Micrococcus sulfureus . . .	2,8—3,0 mg
Bacillus prodigiosus	0,7—1,8 „
Bacterium turcosum	0,3—1,6 „
Bacterium chrysogloëa . . .	1,4 „
Bacterium tartaricum	0,3 „
Bacterium lipsiense	0,2 „

In der freien Natur dürften wohl immer einige der genannten Bakterien bei der Stickstoffbindung gleichzeitig tätig sein und durch die Mitarbeit anderer Mikroorganismen dabei günstig beeinflußt werden. Dies gilt vornehmlich für die anaëroben Stickstoffbinder, denen die sauerstoffbedürftigen Mikroben anaërobe Bedingungen herstellen.

Außer Bakterien spielen bei der Stickstoffbindung aber noch eine Reihe anderer Organismen eine gewiß nicht zu unterschätzende Rolle. Dieselben sollen in ihrer Tätigkeit hier nur kurz erwähnt werden.

Da sind vor allem Hyphomyzeten und Sproßpilze zu nennen, die in zahlreichen Versuchen ansehnliche Mengen von Stickstoff zu binden vermochten. Auch unsere trivialen Schimmelpilze Aspergillus niger und Penicillium glaucum sind in geringem Grade dazu befähigt. Die meisten auf Pflanzen sich ansiedelnden Pilze vermögen auf kohlehydratreicher Unterlage ohne besondere Stickstoffquelle zu leben und assimilieren dabei den elementaren Stickstoff der Atmosphäre. Von Kohlehydraten verarbeiten sie dabei außer Traubenzucker auch Zellulose gut und binden pro Gramm Dextrose bis zu 8,9 mg Stickstoff. Interessant ist es, daß gerade sie ihr Temperaturoptimum niedrig haben, denn es liegt zwischen 0 und 10° C. In der Natur müssen wir ihnen besonders in den kälteren Jahreszeiten eine bedeutsame Rolle für die Stickstoffbindung zuschreiben, da wir gesehen haben, daß die dafür besonders in Betracht kommenden Bakterienarten viel höhere Temperaturoptima haben. Auch verschiedene Humuspilze binden kräftig Stickstoff, da sich bei ihnen Ernten bis zu 22 mg auf 1 g Traubenzucker ergeben haben.

Den meisten Algen soll nach den neueren Untersuchungen, die mit Reinkulturen von einem Cystococcus, dann von Stichococcus, Chlorella und Chlorothecium angestellt worden waren, jede Fähigkeit der Stickstoffbindung mangeln. Erst in Verbindung mit gleichzeitig anwesenden stickstoffbindenden Bakterienarten sollen sie die Tätigkeit derselben dadurch fördern, daß sie ihnen entsprechende Kohlehydrate liefern (Kossowitsch). Dafür spricht auch der Umstand, daß sich die Belichtung der obersten Erdschichten für die Ausbeute an atmosphärischen Stickstoff jedenfalls günstig erweist. Höchstens einige blaugrüne Algen oder Zyanophyzeen, wie Anabaena und Nostoc, assimilieren im Lichte auch elementaren Stickstoff, wofür der Umstand spricht, daß sich gerade diese Algen bei der Herstellung von fruchtbaren Erdreich auf Neuland zuerst zu beteiligen pflegen.

Daß die Bindung des elementaren Stickstoffes im allgemeinen für die Landwirtschaft von der größten Bedeutung ist, steht heute fest. Den größeren Stickstoffertrag liefern wohl die Leguminosen; dieselben ergaben nach angestellten Berechnungen etwa den 5- bis 10fachen Gewinn

gegenüber dem durch die freilebenden, Stickstoff bindenden Organismen geschaffenen Ertrag. Im Haushalte der Natur unterhalten die Stickstoff bindenden Mikroben in erster Linie den ununterbrochenen Kreislauf des Stickstoffes, denn die durch physikalische Kräfte, wie Elektrizität, demselben zugeführten Mengen elementaren Stickstoffes sind viel zu gering, um den Bedarf auch nur annähernd zu decken.

Literatur zur Vorlesung XV.

Hiltner, L., Die Bindung von freiem Stickstoff durch das Zusammenwirken von Schizomyceten und Eumyceten mit höheren Pflanzen. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie. Bd. 3, S. 24.

Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. S. 646. Berlin 1910.

Zipfel, H., Beiträge zur Morphologie und Biologie der Knöllchenkakterien der Leguminosen. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 32, S. 97, 1911.

Bredemann, G., Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 23, S. 385, 1909.

Pringsheim, H., Über die Verwendung von Cellulose als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffes. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 23, S. 300, 1909.

Bredemann, G., Untersuchungen über die Variation und das Stickstoffbindungsvermögen des Bacillus asterosporus A. M., ausgeführt an 27 Stämmen verschiedener Herkunft. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 22, S. 44, 1908.

Krzemieniewski, S., Untersuchungen über Azotobacter chroococcum Beij. Bull. de l'Acad. des Scienc. de Cracovie, math.-naturw. Klasse, S. 929, 1908.

Koch, Alf., Die Bindung von freiem Stickstoff durch frei lebende, niedere Organismen. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 3, S. 1.

SECHZEHNTE VORLESUNG.

Milchbakterien; Milchsäuregärung.

Die Bakterien der Milch und ihre Tätigkeit in derselben haben bei der großen Wichtigkeit dieses Nahrungsmittels ein außerordentlich eingehendes Studium erfahren, das zu sehr bedeutsamen Ergebnissen für die Behandlung derselben im Großbetriebe und für die Herstellung der verschiedenen Milchprodukte führte.

Wir wollen uns zunächst mit den Bakterien der Milch in bezug auf ihre **Menge** und die Beeinflussung derselben kurz befassen. Alle Untersuchungen, die an gewöhnlicher Marktmilch über den Bakteriengehalt derselben angestellt worden waren, haben ergeben, daß derselbe im allgemeinen sehr groß ist. Die in solcher Mich vorhandenen Bakterien können nun entweder vom Euter her schon in der Milch vorhanden sein oder gelangen während des Prozesses des Melkens und nachher in dieselbe hinein.

Obwohl man früher der Meinung war, daß die Milch im Euter gesunder Tiere steril sei, also frei von lebenden Organismen, haben doch einwandfreie Versuche ergeben, daß nur in seltenen Fällen dies zutrifft. Gewöhnlich enthält die in den Zisternen des Euters angesammelte Milch bereits Bakterien, deren Zahl im Kubikzentimeter normalerweise aber durchaus unter 500 bleibt. Dazu muß allerdings bemerkt werden, daß die ersten ausgespritzten Portionen trotz streng aseptischen Melkens reicher an Mikroben sind als die später abfließenden Mengen, was wohl mit einer Bakterienansammlung in den der Mündung zunächst liegenden Teilen der Zitzengänge zusammenhängt. Die aseptisch gewonnene Milch enthält nun überwiegend weiß und gelb wachsende Mikrokokken, die teils in mehr oder minder ausgesprochener Weise Leim verflüssigen. Pathogene Eigenschaften kommen ihnen aber nicht zu. Auch scheint die Mehrzahl von ihnen die Milch kaum irgendwie merkbar ungünstig zu beeinflussen, während ein Teil derselben Milch schwach säuert und nur sehr wenige dieselbe alkalisch machen. In der nebenstehenden graphischen Darstellung der Figur 74 ist das Verhältnis der Mikrokokken in ihrer Menge und Einflußnahme auf die Milch prozentisch nach den Untersuchungen von Esten und Mason wiedergegeben.

Wir entnehmen daraus, daß die meisten (55 Proz.) im Euter, also auch in der völlig aseptisch gemolkenen Milch, vorgefundenen Mikrokokken auf die Milch überhaupt nachher nicht weiter unmittelbar verändernd einwirken. 38 Proz. derselben vermögen durch schwache Säurebildung zu wirken, 7 Proz. durch Alkalierzeugung. Bei

der weiteren Aufbewahrung kann der Charakter solcher Milch natürlich verschieden ausfallen, entsprechend den äußeren Bedingungen, durch welche die Vermehrung der einen oder anderen Bakterienart gefördert wird. Im allgemeinen erweist sich aber eine von gesunden Tieren stammende und nur mit den Euterbakterien infizierte Milch als sehr haltbar.

Die im Euter, bzw. in der aseptisch gewonnenen Milch, noch vorkommenden Kettenkugelbakterien (Streptokokken) sind, gesunde Tiere vorausgesetzt, meist avirulent. Daneben findet man auch häufig die „kurzen Milchsäurebakterien", auf die wir noch genauer zurückkommen werden. Allerdings dürften Verwechslungen der echten Streptokokken mit letzteren oft vorkommen. Ab und zu werden in solcher Milch neben echten Streptokokken auch Traubenkugelbakterien (Staphylokokken) angetroffen. Beide Befunde sind insofern verdächtig, als durch sie gelegentlich bei Eintritt ungünstiger Bedingungen für das Tier, Euterentzündungen ausgelöst werden. Längere Stäbchenbakterien fehlen in der Regel und wegen ihrer allenfalls vorkommenden verschwindend geringen Anzahl dürfen sie wohl mit Recht auf eine Infektion der bereits gemolkenen

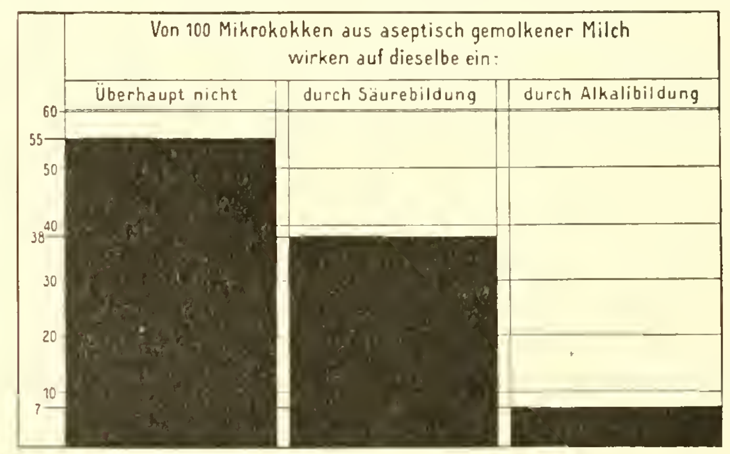


Fig. 74.

Milch von außen her zurückgeführt werden. Außer durch die genannten Bakteriengruppen kann aber die Milch im Euter durch Bakterien infiziert werden, die später dieselbe ungenießbar oder unappetitlich machen. Es sind dies die Erreger der schleimigen, ranzigen und bitteren Milch.

Wesentlich anders ist natürlich der bakteriologische Befund der Milch von Tieren, die an entzündlichen Eutererkrankungen leiden. Nicht nur, daß die Milch schon im Euter eine weitaus größere Anzahl von Bakterien aufweist, wird auch die Zusammensetzung der Flora eine andere. Es überwiegen allerdings auch in diesem Falle die Kugelbakterien, aber man findet reichlich Streptokokken, die längere oder kürzere Ketten bilden. Es handelt sich hier um virulente, pathogene Bakterien, die in einem ursächlichen Zusammenhang mit der Euterentzündung stehen.

Es wäre natürlich außerordentlich wünschenwert, nur streng aseptisch die Milch zu gewinnen. In der großen Praxis ist dies aus vielerlei

Gründen undurchführbar. Trotzdem kann durch peinliche Sauberkeit beim Melken und entsprechende Nachbehandlung und Aufbewahrung eine tadellose und einwandfreie Milch den Konsumenten geliefert werden.

Die **Anzahl** der in der **Handelsmilch** vorkommenden Bakterien ist von dem Alter der Milch, der Aufbewahrung und der Gewinnung derselben in erster Linie abhängig. Dieselbe schwankt zwischen einigen Hunderten und vielen Millionen im Kubikzentimeter.

Wenn man von einigen wenigen, besonders geleiteten Milchwirtschaften absieht, so ist die im Handel befindliche Marktmilch gewöhnlich sehr bakterienreich, ohne daß man aber berechtigt wäre, dieselbe als nicht einwandfrei zu bezeichnen. Bei der Durchsicht der zahllosen Angaben über den absoluten Keimgehalt der Handelsmilch stößt man mitunter auf außerordentlich hohe Zahlen, die sich bei frischer, für die Konsumenten bestimmter Milch mitunter in hunderten von Millionen im Kubikzentimeter bewegen, während Zahlen unter 10000—20000 schon zu den Seltenheiten zu rechnen sind. Als Durchschnittsmittel für gute Marktmilch kann ein Bakteriengehalt von 100000—200000 Mikroben im Kubikzentimeter gelten.

Von der Säuglingsmilch verlangt man allerdings einen bedeutend niedereren Keimgehalt. Dieselbe soll übrigens nur von absolut sicher gesunden Tieren unter größter Sorgfalt und Reinlichkeit gewonnen werden. Daß dadurch der Bakteriengehalt sehr heruntergedrückt werden kann, geht aus festgestellten Bakterienzahlen der Milch aus Versuchswirtschaften hervor, die unter wissenschaftlicher Beobachtung und Leitung stehen. So wurden in der Kuhhaltung Behrings im Kubikzentimeter aseptisch gewonnener Kuhmilch höchstens 200 Bakterien gefunden. Willem gewann bei Melkungen von nur wenigen Kühen eine Milch, die nach 24 Stunden nur 7—128 Mikroben im Kubikzentimeter enthielt. Jedenfalls ist derart bakterienarme Milch in der großen Praxis nicht erreichbar und auch die Forderung Behrings, daß die Säuglingsmilch nur höchstens 1000 Mikroorganismen im Kubikzentimeter enthalten solle, zu rigoros und im allgemeinen nicht ausführbar.

So wie bei allen Nahrungs- und Genußmitteln handelt es sich auch hier weniger um die Höhe der Keimzahl als vielmehr um die Bakterienarten, die sich gerade vorfinden.

Wie schon oben angedeutet, ist zur Gewinnung einer möglichst keimarmen Milch die Beobachtung einer Reihe von Vorsichtsmaßregeln unbedingt nötig. Vor allem ist auf eine reine und gute Haltung der Tiere selbst zu sehen und dann auch der Stall möglichst sauber, luftig und frei von unnötigen Unrat zu halten. Auch die Aufstapelung von Futtervorräten in demselben ist nicht zweckmäßig. Schon längere Zeit vor dem Melken ist jede Aufwirbelung von Staub durch starken Luftzug und starke Bewegungen der Tiere zu vermeiden. Außerdem ist der Stall möglichst fliegenfrei zu halten. Die Fütterung der Tiere mit Trockenfutter ist ebenfalls vor dem Melken zu vermeiden; überhaupt dürfen keine Futterreste in den Krippen ständig liegen bleiben. Das Futter des Tieres selbst muß in einer Beschaffenheit gereicht werden, die es ihm bekömmlich macht und Darmstörungen möglichst vermeidet, damit der Kot keine zu dünne Beschaffenheit aufweist und beim Abgeben nicht herumspritzt. Gerade die häufigsten unangenehmen Milchinfektionen im Stall sind auf

Kotteilchen, die in das Gemelke gelangen, zurückzuführen. Vor dem Melken soll das Euter mit Seife gründlich gereinigt und mit abgekochtem, sterilem Wasser gut gespült werden. Selbstverständlich muß der Melker selbst auch seine Hände gründlichst mechanisch mit Seife und Bürste reinigen. Sehr zweckmäßig ist es, wenn das Melkpersonal beim Melken reine Leinenmäntel trägt, damit von den auf den gewöhnlichen Kleidern haftenden, von den übrigen Stallverrichtungen herkommenden Mikroorganismen nichts in die frischgemolkene Milch hineingelangt. Wenn die Melkung mit zweckdienlichen Maschinen vorgenommen wird, ist die erhaltene Milch bei peinlichster Reinhaltung der Melkvorrichtung allerdings sehr keimarm. Das Handmelken liefert aber bei gewissenhafter und reinlicher Ausführung eine ebenso bakterienarme Milch.

Von sehr bedeutendem Einfluß auf den Bakteriengehalt der Milch sind auch die verwendeten Molkereigeräte. Auch hier wie überall gilt der Satz, daß die einfachsten Vorrichtungen die zweckmäßigsten sind. Man hat zur Gewinnung besonders bakterienarmer Milch komplizierte Melksiebe und Filtervorrichtungen konstruiert und dadurch nur das Gegenteil, eine sehr bakterienreiche Milch, erreicht. Am besten ist der Blecheimer mit einer Öffnung, deren Größe gerade ein bequemes Einmelken gestattet. Für alle Molkereigeräte, wie Melkeimer, Milchsiebe, Versendekannen, Flaschen und Kühler, gilt die Regel, sie nach jedem Gebrauche peinlichst zu reinigen und womöglich zu sterilisieren, da in Spuren zurückbleibende Milch in den anhängenden Wassertröpfchen die Ansiedlung und Vermehrung der Bakterien auf den Geräten sehr günstig beeinflusst. So können Massen von unliebsamen und milchverderbenden Bakterien in dieselbe gelangen. Auf den Kühlern kann dann eine ausgiebige Infektion der Milch erfolgen, wenn die Luft sehr bakterienreich ist. Die Milchkühler sollen deshalb in besonderen Räumen weitab vom Stall oder von staubenden Anlagen untergebracht sein.

Nach dieser eigentlich nicht mehr in den Rahmen unserer Vorlesung gehörigen Abschweifung, wollen wir den Einfluß der Aufbewahrungszeit und der Aufbewahrungstemperatur auf die Keimzahl der Milch kurz betrachten.

Im allgemeinen hat es sich ergeben, daß in den ersten zwanzig bis vierundzwanzig Stunden unmittelbar nach dem Melken eine Abnahme der Bakterienzahl eintritt. Die Untersuchungen von Koning führten für verschiedene Milchproben zu folgenden Zahlen:

Stunden nach dem Melken	Anzahl der Bakterien im ccm		Abnahme bzw. Zunahme der Keimzahlen in Prozenten vom ersten Befund	
	Probe I	Probe II	Probe I	Probe II
Beim Einbringen, also 0—1 Std.	107 000	210 000	—	—
2 „	nicht gezählt	165 000	—	21 Abnahme
6 „	96 500	nicht gezählt	11 Abnahme	—
18 „	120 000	160 000	12 Zunahme	24 Abnahme
30 „	145 000	580 000	35 „	176 Zunahme
42 „	490 000	840 000	385 „	300 „
60 „	4 300 000	3 241 000	3919 „	1543 „
72 „	7 100 000	—	6535 „	—

Es handelt sich hier nur um diejenigen Arten, die überhaupt in Gelatine sich zu vermehren vermögen, da die Zählung mit Hilfe von Gelatineplattenkulturen vorgenommen worden war. Die Milchproben hatten nach dem Melken bei der Übernahme ins Laboratorium eine Temperatur von 21° C. Sie wurden dann rasch gekühlt und im Keller in verschlossenen Flaschen die angegebene Zeit hindurch bei einer Temperatur von 8—11° aufbewahrt.

Die Versuchsreihe zeigt, daß tatsächlich, besonders in den ersten Stunden der Aufbewahrung, eine nennenswerte Verminderung der Keimzahl eintritt. Man bezeichnet den Zeitraum, in der diese Abnahme erfolgt, als „bakterizide Phase der Milch". Noch auffallender ist das Zurückgehen der Keimzahlen bei der Kolostral- oder Biestmilch. Darunter versteht man die kurz nach der Geburt und einige Tage nachher vom Muttertier gebildete Milch.

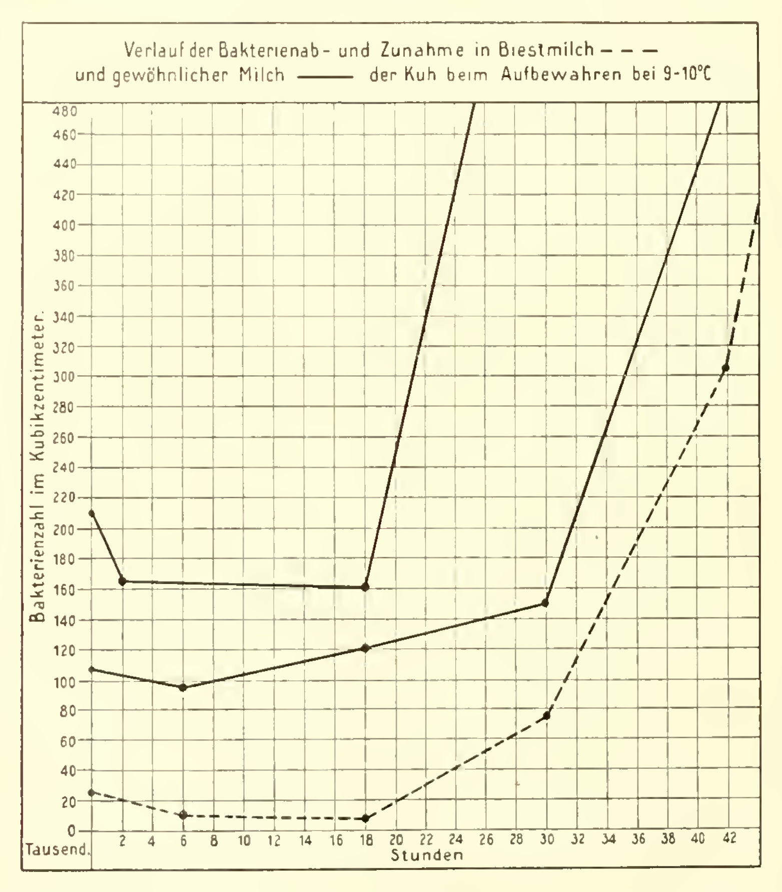
Koning hat nun die Bakterien in solcher Biestmilch von der Kuh nach verschiedenen Zeiten bei einer Aufbewahrung derselben in einer verschlossenen Flasche bei einer Temperatur von 9—10° C bestimmt. Darnach ergeben sich dafür folgende Werte:

Anzahl der Bakterien im Kubikzentimeter		Abnahme bzw. Zunahme in Prozenten vom ersten Befund
Kurz nach dem Melken beim Einbringen ins Laboratorium	25 000	
Bakterienzahl nach 6 Stunden	10 500	60 Abnahme
„ „ 18 „	8 000	68 „
„ „ 30 „	74 700	196 Zunahme
„ „ 42 „	304 000	1 116 „
„ „ 54 „	2 120 000	8 380 „
„ „ 66 „	3 400 000	13 500 „

Wir entnehmen daraus ein sehr starkes Zurückgehen der Bakterienzahl in den ersten achtzehn Stunden nach dem Melken. Allerdings scheint diese besonders große, bakterizide Kraft der Kolostralmilch nach neueren Untersuchungen auf einem Trugschluß zu beruhen. Bub kommt nämlich bei seinen Versuchen mit Biestmilch zu dem Ergebnis, daß die starke Abnahme der Keimzahl in einem Aneinanderkleben der Bakterien, zurückzuführen auf Agglutinine des Kolostrums, beruht. Dadurch ergibt natürlich die Zählung der auf den Platten angegangenen Kolonien eine unrichtige Grundlage für die Anzahl der in der Milch vorhanden gewesenen Bakterien. Die Zahlen sind dann zu niedrig und täuschen eine Keimabnahme vor, die in Wirklichkeit nicht besteht. Jedenfalls müssen die älteren Angaben über die besondere Bakterizidie der Kolostralmilch mit einiger Vorsicht aufgenommen werden. Noch anschaulicher wird der Verlauf der Schwankungen, wenn wir uns aus den oben angeführten Zahlen eine Kurve konstruieren, indem wir die Keimzahlen auf die Ordinate und die Stunden auf die Abszisse auftragen, wie es in der graphischen Darstellung auf S. 196 geschehen ist.

Da ist der Rückgang in den ersten 2—18 Stunden und der darauffolgende rapide Anstieg erst besonders augenfällig. Die mittlere, voll ausgezogene Kurve, die sich auf die Probe I bezieht, und die gestrichelte der mit Biestmilch erhaltenen Zahlen gleichen sich in ihrem Verlauf sehr.

Sobald man aber die Verminderung bzw. Vermehrung in Prozenten der absoluten Keimzahlen ausdrücken und darnach eine Kurve konstruieren würde, dann sieht die Sache wesentlich anders aus. Die bedeutend tiefere Herabdrückung der Keimzahlen in den ersten Stunden geht auch aus den Prozentzahlen der Zu- und Abnahme hervor, die den obigen Zusammenstellungen beigefügt sind. Diese Zahlen zeigen uns, daß die Abnahme in den Milchproben I und II im besten Fall 24 Proz. der zu Beginn des Versuches vorhandenen Keimzahl beträgt, während sie in der Biestmilch 68 Proz. ausmacht. Es werden in letzterer also rund dreimal so viel Bakterien vernichtet, als in der gewöhnlichen Milch.



Die Keimabnahme ist nun nicht etwa auf eine ungünstige Beeinflussung aller in der Milch vorhandenen Bakterien zurückzuführen, sondern nach den zahlreichen Versuchen mit einzelnen Bakterienarten in einer Schädigung gewisser Spezies zu suchen, während andere unbeeinflußt bleiben und sich gleichmäßig weitervermehren oder höchstens einen Wachstumsstillstand aufweisen. Bei den genannten Versuchen spielt natürlich auch die Temperatur während der Aufbewahrung eine hervorragende Rolle. Wählt man tiefere, zwischen 5 und 10° liegende Temperaturen, wie sie im Keller meist herrschen, dann tritt auch eine Wachstumshemmung

ohne Rücksicht auf bakterizide Wirkungen ein. Es werden dadurch in erster Linie jene Bakterienarten getroffen, die ein höheres Temperaturoptimum und nur eine geringe Wachstumsbreite hinsichtlich der Temperatur haben. Kommt dann noch eine mindere Tauglichkeit der Milch als Nährsubstrat dazu, so können zahlreiche Bakterienarten schon ohne jede bakterizide Wirkung mitunter gänzlich ausgeschaltet werden. Noch weiter geht dies, wenn außerdem die keimtötende Wirkung der Milch an sich hinzutritt.

Wenn man ganz allgemein in bezug auf die Temperatur die in der rohen Milch sich besonders vermehrenden Bakterienarten gruppieren will, kann man unter Anlehnung an Beijerinck mit Wolff zwei Floren unterscheiden:

1. Kryoflora bei Temperaturen von 5—20 ° C. Dieselbe besteht vornehmlich aus Mikrokokken, verflüssigenden kurzen Stäbchenbakterien und Fluoreszensarten.

2. Thermoflora bei Temperaturen von 20—37 ° C. Dieselbe machen zwischen 20 und 30 ° C vorzugsweise echte Milchsäurebakterien aus, während bei höheren Temperaturen noch Vertreter der Coli- und Aerogenes-Gruppe sich hinzugesellen.

Entsprechend der Hauptinfektionsquelle der Milch, welche die Stalluft und der Tierkot nach dem früher Gesagten abgeben, sind die Befunde über die **Bakterienarten**, die in der Marktmilch vornehmlich nachgewiesen werden. Man findet sporenbildende Arten und sporenlose, sauerstoffliebende und sauerstoffscheue. Es würde zu weit führen, sie hier alle beschreiben zu wollen. Es genügt, wenn wir die Hauptgruppen kurz erörtern, wobei wir von den schon genannten Euterkakterien hier absehen wollen.

Als Bewohner der frischen Milch sind zuerst „alkalibildende" Kurzstäbchen zu nennen. Es sind nach der Diagnose von Wolff streng aerobe, nicht sporenbildende, aus Laktose und Dextrose nicht gaserzeugende Stäbchenbakterien, die die Milch äußerlich unverändert lassen und Alkali und Riechstoffe erzeugen.

Weiter finden wir in der Milch häufig farbstoffbildende Stäbchenbakterien und solche, die besonders durch ihre große Resistenz gegen höhere Temperaturen auffallen, trotzdem sie nicht Sporen zu bilden vermögen. Außerdem enthält die Milch oft oder vielleicht meistens Vertreter aus der Proteus-Gruppe und andere Kurzstäbchen.

Die Milch beherbergt weiter die verschiedenen Milchsäurebakterien, die man in mehrere Gruppen einordnen kann. Genannt seien vor allem die Gruppe des Bacterium Leichmanni (synonym mit Bacillus lactis acidi, Bacterium Güntheri, Bacillus lacticus, Streptococcus lactis) und diejenige der langen Milchsäurebakterien oder Laktobakterien (synonym mit Lactobacillus). Dazu kommt dann noch die Gruppe der Milchsäure erzeugenden Kugelbakterien mit ihren zahlreichen Vertretern.

Besonders in unrein gewonnener Milch sind Vertreter der Gruppe: Bacillus coli und Bacillus aerogenes in größeren Mengen zu finden, während sie in reinlichen Betrieben normalerweise fast fehlen. Es sind kräftige Gasbildner, die die Milch stark zersetzen und meist schon nach kürzerer Zeit ungenießbar machen. Sie wachsen sowohl aërob als anaërob.

Alle bisher genannten Bakterienarten der frischen Milch bilden keine Sporen. In sehr geringen Mengen findet man in der Milch aber auch aërobe Sporenbildner, die aber infolge ihres hohen Temperaturoptimums bei der gewöhnlichen, kühlen Aufbewahrung der Milch kaum eine starke Vermehrung aufweisen können.

Von anaëroben, sporenbildenden Bakterienarten, die auch zu den weniger zahlreichen Befunden in normaler Marktmilch zählen, sind unter anderen auch Vertreter der uns schon bekannten Bakteriengruppen Bacillus amylobacter und Bacillus putrificus nachgewiesen worden.

Schließlich können wir in der Milch noch Strahlenpilze oder Aktinomyzeten, vom Futterstaub stammend, finden, dann Schimmelpilze und Hefen.

Die Milch und ihre rohen Produkte enthalten normalerweise keine menschenpathogenen Bakterienarten. Trotzdem werden aber durch dieselbe in vielen Fällen Infektionskrankheiten übertragen, da ihre keimtötende Kraft keineswegs diese Bakterienarten so wesentlich schädigt, daß sie nicht mehr infektionstüchtig wären.

Bei den durch Milch bewirkten Übertragungen von ansteckenden Krankheiten kann es sich um solche handeln, die das Tier befallen haben und gleichzeitig für den Menschen gefährlich sind, wie Milzbrand, Maul- und Klauenseuche und auch Tuberkulose und Rotz, oder um solche, die nur durch die Milch von Menschen zu Menschen verschleppt werden. Hier sind vor allem zu nennen der Typhus, die Cholera, die Diphtherie u. a. mehr. Über die Übertragbarkeit der Rindertuberkulose auf den Menschen sind die Akten noch keineswegs geschlossen, da eine solche von namhaften Forschern, wie Robert Koch, auf Grund zahlreicher Untersuchungen in Abrede gestellt wird. Mit absoluter Sicherheit ist die Möglichkeit einer Tuberkuloseinfektion durch die Milch von Kühen, die an Euter- oder schwerer allgemeiner Tuberkulose leiden, durchaus nicht auszuschließen und deshalb nur dann der Genuß roher Milch unbedenklich, wenn sie aus Milchbetrieben stammt, die den Gesundheitszustand ihrer Kühe aufs sorgfältigste überwachen. Die außerordentlich große Empfänglichkeit der meisten Menschen für die anderen übertragbaren Tierkrankheiten steht wohl außer jedem Zweifel.

Was nun die Übertragung von Typhus-, Cholera- und Diphtheriebakterien und wahrscheinlich auch von Scharlach durch die Milch anlangt, steht es fest, daß Epidemien tatsächlich des öfteren auf den Genuß der rohen infizierten Milch hin ausgelöst wurden. Dies gilt vornehmlich für Typhusepidemien. Sowohl Typhusbazillen als auch Choleravibrionen und Diphtheriebakterien können sich einige Zeit hindurch besonders bei höherer Aufbewahrungstemperatur in der frischen Milch sogar vermehren, bleiben aber sicher solange in frischer Milch lebensfähig und virulent, als sie überhaupt im Haushalte roh aufbewahrt wird. Auch die Möglichkeit der Verbreitung von Infektionskrankheiten durch die rohe Milch mahnt zur Vorsicht bei deren Genuß.

Die vorstehenden Angaben beziehen sich in erster Linie auf Kuhmilch, da dieselbe doch in unseren Gegenden weitaus am meisten zur Verwendung gelangt. Für die anderen Milcharten treffen diese Befunde im großen und ganzen auch zu, wenn sich auch die Flora mit der Tierart und ihrer Ernährung teilweise ändert.

Die **Veränderungen**, die die Milch beim Aufbewahren aufweist und die grobsinnlich jeder Laie wahrnimmt, bestehen gewöhnlich in einem Dickwerden derselben unter gleichzeitiger Säuerung. Schon die Vorstufen derselben, die noch nicht so augenfällig in Erscheinung treten, machen sich beim Kochen etwas länger aufbewahrter und noch nicht dickgewordener Milch durch eine kräftige Kaseinabscheidung bemerkbar. Die Kaseinfällung ist wohl meist auf die durch die Milchsäurebakterien erzeugte saure Reaktion der Milch zurückzuführen. Übrigens sind auch Milchbakterien bekannt geworden, die ein Kasease, also Lab, erzeugen, das dann die Kaseinfällung bewirkt. Vielfach werden beim Gerinnen der Milch beide Prozesse beteiligt sein und der eine oder andere überwiegen. Außer einem ausgiebigen Abbau des Milchzuckers und Fettes treten beim Aufbewahren der Milch auch Zersetzungen der stickstoffhaltigen Verbindungen ein, auf die wir hier des Näheren eingehen wollen.

Die Milch enthält als Produkt lebender Zellen an und für sich eine Reihe von Enzymen, die in sehr geringem Grade gewiß an den Umsetzungen ihrer Bestandteile beteiligt sind. Gegenüber der Wirkung der Milchbakterien und höheren Pilze ist diejenige der Milchenzyme aber verschwindend klein und kann nach den vorläufigen diesbezüglichen Untersuchungsergebnissen unbeachtet bleiben. Das gilt in noch größerem Umfange für den Abbau des Milcheiweißes. In den in der Praxis vorkommenden Aufbewahrungszeiten der rohen Milch kommt es selten zu einem tiefen und umfangreicheren Zerfall der Eiweißkörper der Milch, obwohl dazu befähigte Mikroorganismem nach unseren Auseinandersetzungen über die Milchflora sogar ziemlich reichlich in derselben vorhanden sind und auch später hineingelangen. Daß hier eine tiefgehende Fäulnis erst spät eintritt, hat seinen Grund in der rasch und ausgiebig entstehenden Milchsäure, die auf die meisten Bakterien mit Ausnahme der Milchsäurebildner schon in geringen Mengen stark hemmend und vernichtend wirkt. Wenn aber gleich zu Beginn der Aufbewahrungsperiode die Fäulnisbakterien die Oberhand gewinnen, dann können wir auch an der Milch alle Vorgänge einer echten Fäulnis beobachten. Nach sehr langer Zeit kann ebenfalls der Fäulnisprozeß einsetzen, wenn die gebildete und fäulnishemmende Milchsäure von Bakterien und Schimmelpilzen weiter verarbeitet und auf diese Weise weggeschafft wird. Wir finden in der faulenden Milch die schon besprochenen Abbauprodukte wieder, so daß darüber weiter nichts mitzuteilen ist.

Wenn es gewöhnlich auch nicht zu Abbauprozessen kommt, die als Fäulnis angesprochen werden dürfen, so findet doch immer in der Marktmilch eine geringfügigere Spaltung der Eiweißsubstanzen selbst in kurzen Aufbewahrungszeiten und bei nicht hohen Temperaturen statt. Es sind dabei peptonisierende Milchsäurebakterien an der Arbeit, die eine Verflüssigung von gefälltem Kasein herbeiführen oder auch eine Spaltung des ungefällten Kaseins verursachen. Diejenigen Milchsäurebildner, die nur den koagulierten Käsestoff lösen oder peptonisieren, werden wir bei der Besprechung der Käsereifung noch kennen lernen.

. Neben den normalerweise in der Milch nicht in den Vordergrund tretenden Umsetzungen der stickstoffhaltigen Verbindungen verlaufen die besonders auffallenden Gärungs- oder Zersetzungsprozesse des Milchzuckers.

Wir haben den Vorgang der Bildung von Milchsäure aus Milchzucker als enzymatischen Prozeß schon kennen gelernt und denselben kurz charakterisiert. Zahlreiche Bakterienarten der großen Gruppen Kugel- und Stäbchenbakterien bilden nun das Milchsäureenzym und vergären dementsprechend Laktose. Die Zahl der speziell in der Milch freiwillig auftretenden **Milchsäurebakterien** ist sehr groß. Dabei hat es sich gezeigt, daß viele als besondere Arten beschriebene Milchsäurebildner nur Varietäten einer Spezies und daher sehr zweckmäßig in Gruppen zu vereinigen sind, die eine Reihe besonderer Typen charakterisiert.

So hat unter anderen auch Löhnis in der letzteren Zeit den Versuch gemacht, in das Chaos der Milchsäurebakterien dadurch Ordnung zu bringen, daß er große Sammelgruppen mit Untergruppen aufstellte, die durch besondere Typen gegeben sind. Im folgenden sei auf diese Einteilung näher eingegangen.

Nach Löhnis sind in der „Gruppe des Bacterium pneumoniae Friedländer" diejenigen Milchsäurebakterien vereint, deren Form ziemliche Variationen aufweist. Typisch mißt die Breite $^3/_4$—1 μ, die Länge 1—$1^1/_2$ μ, wenn die Schwankungen auch recht beträchtlich sein können. Die Stäbchen sind unbeweglich und neigen zur Bildung von längeren oder kürzeren Fadenverbänden. Sporenbildung fehlt. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 28 und 42° C. Die Vertreter dieser Gruppe sind teils fakultativ-anaërob, teils streng aërob. Die meisten derselben verflüssigen die Gelatine nicht, koagulieren aber die Milch innerhalb kürzerer oder längerer Zeit, während nur wenige überhaupt keine Fällung des Kaseins herbeiführen. Sie produzieren meist linksdrehende, selten inaktive und rechtsdrehende Milchsäure. Außer Laktose werden von ihnen noch Saccharose, Maltose, Lävulose, Dextrose, Galaktose, Arabinose, Xylose, Mannit und Glyzerin vergoren. Dabei entsteht meist Kohlensäure, Wasserstoff und in seltenen Fällen auch Methan. Auch das Auftreten flüchtiger Säuren, wie Essigsäure und Ameisensäure wurden beobachtet. Überdies entsteht mitunter Bernsteinsäure in sehr beträchtlicher Menge. Geringe Alkoholbildung ist nicht selten. Löhnis teilt die ganze Gruppe in 7 Unterabteilungen, die durch folgende Typen charakterisiert sind:

„1. Typus: Bacterium acidi lactici Hüppe." Hierher gehören die Milch zur Gerinnung bringenden und gasbildenden Formen, denen auch die Vertreter der Aerogenes-Gruppe zuzuzählen sind.

„2. Typus: Bacterium limbatum Marpmann." Die hierher zu rechnenden Formen koagulieren Milch, bilden aber kein Gas.

„3. Tpyus: Bacterium pneumoniae Friedländer." Dazu sind diejenigen Formen zu rechnen, die Gas bilden, aber die Milch nicht zur Gerinnung bringen. Auch die entsprechend pathogenen Bakterien gehören dazu.

„4. Typus: Bacillus lactis innocuus Wilde." Es sind nicht gaserzeugende und milchkoagulierende Bakterien.

„5. Schleimiger Typus. Durch starke Schleimbildung ausgezeichnete Formen." Hierher sind die Erreger der schleimigen Milch zu setzen, die gleichzeitig eine Milchsäuregärung veranlassen.

„6. Rankenbildender Typus. Formen mit verzweigten Kolonien."

7. „Verflüssigender Typus. Gelatineverflüssigende Formen."

Den Anhang zu dieser großen Gruppe I der Milchsäurebakterien bilden nach Löhnis die verschiedenen Varietäten des Bacillus coli, zu denen auch verschiedene Aromabakterien gehören.

Die **II. Gruppe** der Milchsäurebakterien betitelt Löhnis als solche „des Streptococcus pyogenes Rosenbach" mit der Beifügung „Streptococcus lactis Lister". Sie läßt sich nach diesem Autor kurz folgendermaßen kennzeichnen: Die Vertreter derselben weisen eine sehr verschiedene Gestalt auf. Als typisch können ovale, häufig an einem Ende lanzettförmig verjüngte Formen von 0,6—1 μ Länge und ungefähr 0,5 μ Breite angesehen werden, die oft zu zweit vereint vorkommen oder in Form kurzer Kettenverbände mit 4—6 Gliedern. Man findet aber auch eine deutlich ausgesprochene Stäbchengestalt, indem die Länge bis 2 μ erreicht und die Breite bis zu 0,3 μ absinkt. Daneben treten hypertrophische Zellformen auf, der Größe auf 2—3 μ ansteigt. Die meisten Bakterien dieser Gruppe sind unbeweglich. Sporenbildung wurde bisher nicht beobachtet. Sie sind nicht besonders sauerstoffliebend, da sie sich bei niederer Spannung desselben besser entwickeln, als bei ungehindertem Luftzutritt. Das Temperaturoptimum für das Wachstum liegt für die nicht pathogenen Vertreter dieser Gruppe zwischen 30 und 35° C, während die pathogenen Formen bei 37° am besten gedeihen. Die Milch wird durch einige Bakterien der „Streptokokkusgruppe" innerhalb von 24 Stunden zur Gerinnung gebracht, durch andere nur langsam und wieder andere überhaupt nicht. Sie vergären Laktose vorwiegend zur rechtsdrehenden Modifikation der Milchsäure. Selten entsteht die razemische Verbindung und Linksmilchsäure. Unter ihnen finden sich auch farbstoffbildende Bakterienarten, die ein rotes oder gelbes Pigment erzeugen. Wenn überhaupt eine Gasbildung bei der Zersetzung von Kohlehydraten auftritt, so besteht es vorwiegend aus Kohlendioxyd; in einigen Fällen scheint es auch Wasserstoff zu enthalten. Im allgemeinen vergären sie außer Laktose noch Traubenzucker, Lävulose, Maltose, Rohrzucker, Galaktose und Glyzerin. Neben Milchsäure entstehen nur unbedeutende Mengen anderer organischer Säuren oder sie fehlen völlig.

Die Untergruppen dieser II. Hauptgruppe werden durch sieben Typen repräsentiert.

1. Typus: Streptococcus mastitidis Guillebeau. Die Vertreter desselben sind gasbildend und bringen die Milch zur Gerinnung.

2. Typus: Streptococcus lactis Lister. Hierher gehören Formen, die die Milch koagulieren, bei der Vergärung des Milchzuckers aber kein Gas bilden.

3. Typus: Streptococcus Kefir Migula. Diese Bakteriengruppe, der nur wenige Vertreter angehören, bilden bei der Gärung Gas, koagulieren Milch aber nicht.

4. Typus: Streptococcus lactis innoccuus Löhnis. Hierher gehören Bakterien, die weder die Milch zur Gerinnung bringen, noch Gase erzeugen.

5. Typus, dadurch gekennzeichnet, daß die hierher gehörigen Varietäten sehr stark Schleim erzeugen.

6. Typus, gekennzeichnet durch die Rankenbildung der Kolonien, die also verzweigte, weite Ausläufer aufweisen.

7. Verflüssigender Typus, da die hierher zu rechnenden Mikroben Leim peptonisieren. Zu diesem Typus gehören auch nur wenige Formen.

Eine **III. große Gruppe** von Milchsäurebakterien führt Löhnis als „Gruppe des Bacterium caucasicum (v. Freudenreich) Lehmann et Neumann", mit dem Zusatze Bacterium casei. Diese Gruppe setzt sich vornehmlich aus Käsebakterien zusammen, die für die Käsereifung von Bedeutung sind, und auch neben anderen aus Bakterien, die in vergorenen Milchgetränken auftreten und für deren Erzeugung teilweise wesentlich sind.

Die Vertreter dieser Gruppe weisen unter den Milchsäurebakterien die größte Variabilität der Form auf. Als typische Gestalten können schlanke Stäbchen gelten, deren Länge 2—3 μ und deren Breite $^1/_2$—$^3/_4$ μ mißt. Außerdem kommen sehr verkürzte Zellen und lange Fadenverbände vor, in denen die Zellgrenzen nicht mehr sichtbar sind. Neben diesen ungegliederten Fäden beobachtet man auch deutliche Kettenbildungen, also gegliederte Fäden. Den Vertretern dieser Gruppe fehlt ein Schwärmstadium und die Fähigkeit der Sporenbildung. Sie scheuen Sauerstoffspannungen in der Größe derjenigen in der Atmosphäre, sind also anaërob. Ihr Temperaturoptimum für das Wachstum liegt verschieden, aber im allgemeinen hoch, meistens zwischen 40 und 50° C. In bezug auf Stickstoffquellen sind sie anspruchsvoll, denn sie gedeihen nur bei Anwesenheit von eiweißartigen Verbindungen und einer besonderen Kohlenstoffquelle, die vergoren wird. Sie sind zwar nicht Gelatine-verflüssigend, trotzdem einige Vertreter dieser Gruppe Kasein peptonisieren. In dieser Gruppe brachte Löhnis auch noch Arten unter, die Laktose nicht angreifen. Alle vergären aber Dextrose, Lävulose und Galaktose unter Kohlesäurebildung, wenn es überhaupt zu einer Gasproduktion kommt. Pathogen ist kein Bakterium dieser Gruppe.

Sechs Typen geben die Grundlage für die weiteren Unterabteilungen dieser III. Gruppe.

1. Typus: Bacillus casei Freudenreich. Die hierher gehörigen Bakterien fällen in der Milch das Kasein und vergären die genannten Zucker unter Gasbildung.

2. Typus: Bacterium casei Leichmann. Diese Bakterienarten erzeugen kein Gas, koagulieren aber die Milch.

3. Typus: Bacterium caucasicum Lehmann und Neumann. Bakterien, die Milch nicht zur Gerinnung bringen, aber Zucker unter Gasbildung vergären.

4. Typus: Bacillus Delbrückii Leichmann. Die diesen Typus repräsentierenden Arten bilden kein Gas und erzeugen in der Milch keine Kaseinfällung.

5. Typus: Schleimbildner verschiedener Herkunft.

6. Typus: Bakterien, deren Kolonien rankenartige Verzweigungen und Ausläufer besitzen.

Als **IV. und letzte Gruppe** der Milchsäurebakterien finden wir bei Löhnis diejenige des Micrococcus pyogenes Rosenbach mit der Beifügung „Micrococcus lactis acidi".

Sie umfaßt Kugelbakterien vom Durchmesser 0,8—1,6 μ, die teils einzeln, teils als Doppelkugeln und auch zu Häufchen vereint vorkommen. Die meisten von ihnen sind unbeweglich. Sporenbildung fehlt. Es sind genügsame Bakterienarten, die auch ohne Eiweißnahrung gedeihen. Ihr Temperaturoptimum liegt meist zwischen 20 und 30° C. Ihr Sauerstoffbedürfnis ist groß. Unter ihnen finden sich auch zahlreiche farbstoffbildende Arten. Außerdem gehören zu ihnen solche Formen, die die Milch verderben, indem sie ihr entweder einen bitteren Geschmack verleihen oder sie fadenziehend und schleimig machen. Unter ihnen gibt es auch pathogene Bakterien, deren Virulenz aber sehr schwankend ist.

Die sieben Untergruppen sind durch folgende Typen gegeben:

1. Typus: Micrococcus pyogenes Rosenbach. Kokken, die Gelatine peptonisieren und Milch zur Gerinnung bringen.

2. Typus: Micrococcus lactis acidi Marpmann. Diesen Kugelbakterien fehlt die Fähigkeit der Gelatineverflüssigung, wohl aber koagulieren sie das Kasein der Milch.

3. Typus: Micrococcus cremoides Zimmermann. Diese Kokken verflüssigen die Gelatine, bringen aber Milch nicht zur Gerinnung.

4. Typus: Micrococcus candicans Flügge. Hierher gehören Kugelbakterien, welche Galatine nicht peptonisieren und Kasein nicht fällen.

5. Typus der Schleimbildner, die alle Milch sehr stark fadenziehend machen.

6. Typus: Umfaßt Kokken, deren Auflagerungen Rankenbildungen aufweisen.

7. Typus: Diesen machen Kugelbakterien aus, welche unter kräftiger Gasbildung wachsen. Es wurden nur wenige bekannt, die zu seltenen Befunden zählen.

Die Gruppe der Mikrokokken beschließen als Anhang die „Sarzina-Formen" mit wenigen Vertretern.

Die Typen sämtlicher vier Gruppen sind durch Übergangsformen verbunden und Varietäten einer Art müssen den angegebenen Merkmalen entsprechend verschiedenen Typen zugeteilt werden. Trotzdem genügt diese Einteilung von Löhnis den praktischen Zwecken. Wissenschaftlich ist sie aber keineswegs. Dies gilt in besonderem Maße für die zweite Gruppe, die „Streptokokken" oder wie sie in der Milchbakteriologie auch häufig kurzweg „Milchstreptokokken" genannt werden. Trotzdem reine Kugelformen bei ihnen zu den Seltenheiten zählen, ist die Hauptgruppe selbst als Kettenkugelbakterie ebenso wie alle Typen benannt. Auch die einseitig zugespitzten Formen dürfen nicht als Kokken bezeichnet werden, wenn wir nicht die vorläufige, mühsame Formfeststellung einfach über Bord werfen wollen. Ob damit aber eine besondere Klarheit und Eindeutigkeit der Namen und der Vorstellungen erreicht wird, bleibe dahingestellt. Jedenfalls ist eine andere Abgrenzung und Zusammenziehung der Arten mit entsprechender Nomenklatur ein berechtigter Wunsch, der auch von anderer Seite schon geäußert wurde.

Außer den genannten Bakterientypen, von denen allerdings einige nicht Milchsäure bilden, können noch zahlreiche andere Bakterienarten die Milch säuern. Auch sie vergären die Laktose zu Milchsäure. Sie gehören zu den Stäbchenbakterien und Schraubenbakterien. Auf sie braucht nicht näher eingegangen zu werden. Das gleiche gilt auch für sporenbildende Stäbchenbakterien, die der Darmflora angehören. Für die Milchsäurebildung in vergorenen Milchgetränken, wie im Kefir und im armenischen Mazun kommen ebenfalls sporenbildende Bakterien in Frage, die später genauer behandelt werden sollen.

Die Menge der in der Milch gebildeten Milchsäure ist in erster Linie von der Art des Erregers abhängig. Es ergeben sich allerdings keine sehr großen Unterschiede, wenn man die verschiedenen diesbezüglichen Angaben vergleicht. Als Mittelwert kann eine Menge von 0,5 Proz. Milchsäure angesehen werden. Sobald dieser Gehalt erreicht ist, steht die Milchsäurebildung von selbst still, da die gebildete Säure auch das weitere Wachstum der Milchsäurebakterien hemmt. Sorgt man durch fortwährende Zugaben von unschädlichen Metalloxyden oder überhaupt Neutralisierungsmitteln für eine ständige Bindung der Milchsäure, so kann der Prozeß der Milchsäuregärung bis zum Verschwinden des gesamten Milchzuckers weitergetrieben werden. Die Milch selbst enthält schon in ihren mehrbasischen Phosphorsäureverbindungen und im Kaseinkalk Neutralisierungsmittel, die sich mit der Milchsäure umsetzen. Es hat sich ergeben, daß die Menge der freien Milchsäure, die von den Milchsäurebakterien vertragen wird, sehr gering ist, denn sie überschreitet 0,04 Proz. nicht. Bei der freiwilligen Milchsäuregärung in der Milch verläuft die Bindung der Milchsäure aller Wahrscheinlichkeit nach in der Weise, daß zuerst eine Umwandlung der zweibasischen phosphorsauren Salze in einbasische erfolgt, wobei milchsaures Kalium, Kalzium und Magnesium neben den Monophosphaten entsteht. Die weiterhin entstehenden Milchsäuremengen setzen sich mit dem Kaseinkalk um, indem die Milchsäure dem Kasein Kalk entzieht und dabei Kaseinmilchsäureverbindungen und Kalziumlaktat bildet. In dieser Hinsicht wirken also die zweibasischen Phosphate und der Kaseinkalk als Neutralisierungsmittel, nach deren Verbrauch nur noch geringe Mengen freier Milchsäure bei der spontanen Milchsäuerung auftreten.

Bei der freiwilligen Säuerung der Milch zeigt es sich auch, daß trotz der starken Vermehrung der Milchsäurebakterien keine besondere Säurezunahme anfangs zu beobachten ist. Diese unmittelbar nach dem Melken einsetzende Periode der Milchsäurebakterienvermehrung ohne Säuerung nennt Soxhlet das „Inkubationsstadium der Milchsäuregärung". Es verlängert sich mit abnehmender Aufbewahrungstemperatur, denn die Dauer beträgt bei 10° etwa 48—72 Stunden, bei 20° 12—20 Stunden und bei 37° nur mehr ungefähr 5 Stunden.

Die bei der Milchsäuregärung in mehr oder minder großer Menge auftretenden Nebenprodukte wurden schon bei den Gruppen der Milchsäurebildner kurz erwähnt. Es scheint, daß deren Auftreten nicht nur von der Bakterienart selbst, sondern auch von der Temperatur, bei der die Gärung erfolgt, abhängt.

Auch das Milchfett kann einer bakteriellen Zersetzung unterliegen, die durch die fettspaltenden Enzyme oder Lipasen der betreffenden Bakterienarten hervorgebracht wird.

Literatur zur Vorlesung XVI.

Weigmann, H., Herkunft der Bakterien der Milch. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 1 ff.

Barthel, Chr., Obligat anaerobe Bakterien in Milch und Molkereiprodukten. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 26, S. 1, 1910.

Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. Berlin 1910. Dazu auch noch die Bemerkungen von Wolff, Milchwirtschaftliche Bakteriologie, im Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 28, S. 417, 1910.

Burri, R., Anwendung der Bakteriologie im Molkereibetriebe, §§ 64—72. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 238 ff.

Koning, C. J., Biologie und biochemische Studien über Milch. Leipzig 1906—1911.

Bub, M., Besitzt die Kolostralmilch bakterizide Eigenschaften? Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 27, S. 321, 1910.

Löhnis, F., Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 18, S. 96, 1907.

Weigmann, H., Die Gärungen der Milch und der Abbau ihrer Bestandteile. Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 48.

SIEBZEHNTE VORLESUNG.

Bakterien der Milchfehler. Butterbakterien. Butterfehler. Käsereifung. Käsefehler.

Eine verhältnismäßig häufige Erscheinung ist das **Verschleimen und Fadenziehen** aufbewahrter Milch. Die Erreger desselben sind meist Bakterien, die nur in seltenen Fällen schon aus dem Euter her in der Milch sind, sondern später größtenteils aus den Melkgeräten und Aufbewahrungsgefäßen in dieselbe gelangen. Häufig handelt es sich dabei auch um Wasserbakterien. Unter den Milchbakterien ist die Zahl derjenigen Arten groß, die eine Schleimbildung in der Milch verursachen können. Es wurde auch jeder der vier großen Gruppen der Milchsäurebakterien eine Unterabteilung beigegeben, die durch den schleimbildenden Typus gekennzeichnet ist. Übrigens ist die Eigenschaft der Schleimbildung durchaus nicht konstant, sondern tritt gelegentlich bei zahlreichen Milchsäuremikroben vorübergehend auf. Außer den schleimerzeugenden Vertretern der Milchsäurebakteriengruppen bewirken auch mitunter sporenbildende Bakterienarten diese Erscheinung. Die Vertreter der großen Gruppe der Kartoffelbazillen kommt dabei in manchen Fällen sicher ebenfalls in Frage.

Was die gebildeten Schleimmassen selbst anlangt, so sind dieselben entweder stickstoffrei oder stickstoffhältig, aber immer als Produkte der betreffenden Bakterienart aufzufassen. Die Schleime sind wahrscheinlich gummiartige Stoffe, die vornehmlich Anhydriden von Kohlehydraten entsprechen, was in erster Linie für die Gallertbildungen der Vertreter der Gruppe „Bacterium pneumoniae" gilt. Der Stickstoffgehalt mancher Schleimstoffe, die besonders von Bakterien der Gruppe „Streptococcus" erzeugt werden, ist in erster Reihe auf Muzin zurückzuführen. (Vergl. auch S. 70 dieser Vorlesungen.)

Die visköse Beschaffenheit der Milch wird dadurch noch erhöht, daß zahlreiche Schleimbildner entweder durch ihr Chymosin oder durch gleichzeitig gebildete Milchsäure das Kasein teilweise oder ganz, grob oder feinflockig, fällen. Außerdem kann es sich um Bakterien handeln, die wie zahlreiche Vertreter der Gruppe „Bacterium pneumoniae" zur Kapselbildung neigen und mitunter größere Gallerthüllen hervorbringen. In diesem Falle ist die Milch durchwegs von froschlaichähnlichen Gebilden durchzogen, die in größeren und kleineren schleimigen Klümpchen auftreten.

Auch höhere Pilze, wie Oidium lactis können gelegentlich die Ursache der Schleimbildung von Milch abgeben, wenn ihnen auch normalerweise die Fähigkeit dazu mangelt.

Die Erreger der absichtlich hervorgerufenen Schleimbildung bei der Herstellung des Edamer Käses und der schwedischen Dichtmilch sollen später besprochen werden.

Häufig werden durch Bakterien auch eigenartige **Geschmacksveränderungen** und **besondere Gerüche** bei Milch erzeugt, die auf bestimmte, oft nicht näher bekannte Stoffwechselprodukte derselben zurückgeführt werden müssen. Die Erzeugung solcher Geschmacks- und Geruchsstoffe ist ebenfalls keine dauernde Eigenschaft dafür etwa spezifischer Bakterienarten, sondern tritt bei manchen Arten gelegentlich auf um alsbald wieder zu verschwinden. Es dürfte dies mit der eben herrschenden Disposition der Milch für das Entstehen solcher Stoffe zusammenhängen, worüber wir aber herzlich wenig wissen.

Neben anderen Ursachen bewirken den öfter auftretenden, **bitteren Geschmack** der Milch vornehmlich Mikroorganismen, die alle die Fähigkeit besitzen, die Eiweißstoffe der Milch zu zersetzen und dabei organische Bitterstoffe zu erzeugen. Die Zahl der als besondere Arten von Bitterstoffbildnern beschriebenen Bakterienarten ist schon sehr groß geworden. Wolff ordnet sie in fünf Gruppen ein. Die Vertreter derselben rekrutieren sich aus sporenbildenden Subtilis- und Kartoffelbazillenarten, die die Milch gleichzeitig unter Lösung des Kaseins gelblich oder bräunlich verfärben, aus sporenbildenden, verflüssigenden Buttersäurebakterien, aus nicht sporenbildenden Stäbchenbakterien ohne besonders ausgesprochenes Kaseinlösungsvermögen, aus nicht sporenerzeugenden, aber Milch kräftig peptonisierenden Stäbchenbakterien und endlich aus kleinen Kugelbakterien, die ebenfalls sehr energisch milchpeptonisierend wirken. Über die Bitterstoffe selbst sind wir nur wenig unterrichtet. In einigen Fällen soll übrigens Ammoniak und Azetaldehyd den bitteren Geschmack hervorrufen.

Auch zahlreiche höhere Pilze sind als Ursache des bitteren Geschmackes der Milch bekannt geworden, wie Saccharomyzeten und Torulaarten, dann Cladosporium, Monilia- und Oidiumarten und endlich Schimmelpilze.

Eine andere Art von Geschmacksänderung der Milch durch Bakterien ist die Bildung des **Seifengeschmackes**, den eine Reihe von Varietäten des Bacillus lactis saponacei Weigmann et Zirn hervorbringen. Auch Vertreter der weit verbreiteten Gruppe der fluoreszierenden Bakterien erzeugen häufig in der Milch einen seifig-laugigen Geschmack, wie beispielsweise das Bacterium sapolacticum Eichholz, das gerade in niederen Temperaturen von 5—7° diese Veränderung besonders herbeiführt. Daneben tritt übrigens in diesem Falle der sog. „Kuhgeruch" noch auf.

Den ranzigen und talgigen Geschmack der Milch bringen insonderheit einige Mikrokokken hervor.

Der **Geruch** der Milch kann ebenfalls durch Bakterien und auch höhere Pilze ungünstig beeinflußt werden. Es gibt unter den Bakterien Arten, die in Milch einen intensiven Gestank nach Limburger Käse erzeugen.

In vielen Fällen treten Geruchs- und Geschmacksstoffe gleichzeitig in der Milch auf. Dieselben sind mitunter angenehm, mitunter sehr unangenehm. Häufig bekommt die Milch bei der Aufbewahrung im Eisschrank ein ausgesprochen fruchtsaftartiges Aroma, das sehr angenehm und mitunter auch beim Rahm und bei der Butter wahrzunehmen ist. Es dürfte sich bei den Erregern dieser Erscheinungen um Varietäten der Coli- und Aerogenes-Gruppe handeln. Die Pseudomonas trifolii Huß erzeugt neben dem bitteren Geschmack in der Milch einen typischen Heugeruch. Auch der minder angenehme, schon früher genannte Kuhgeruch und der meist gleichzeitig auftretende „Stallgeschmack" gehen häufig ebenfalls auf Vertreter der beiden obengenannten Bakterienarten zurück. Es ließen sich noch viele Beispiele verschiedener Geschmacks- und Geruchsänderung der Milch infolge Bakterientätigkeit aufzählen, was aber zu weit führen würde.

Durch Pigmentbildung der in der Milch wachsenden Bakterienarten wird oft eine **Farbenveränderung** derselben herbeigeführt. Allbekannt ist die rote und blaue Milch. Abgesehen von dem Übergang von Farbstoffen höherer Pflanzen nach dem Genusse derselben in die Milch, bewirken eine Rotfärbung, hauptsächlich Bacillus prodigiosus und Bacterium lactis erythrogenes, seltener Sarcina rosea während die Blaufärbung durch das Pigment von Bacillus cyanogenes, violaceus, cyaneofluorescens und Bacterium coeruleum hervorgebracht wird. Eine Gelbfärbung zeigt die Milch bei reichlicher Entwicklung des Bacillus synxanthus in derselben.

Im Anhang seien hier die durch besondere Schleimbildung erzeugte **„Lange Wei"** und die **„schwedische Dichtmilch"** kurz erörtert.

Mit „Lange Wei" bezeichnet man eine schleimige, fadenziehende Molke, die eine verbreitete Verwendung für die Herstellung des Edamer Käses in Holland besitzt. Die Schleimbildung geht auf den „Streptococcus hollandicus" zurück, einer fakultativ anaëroben, oder vielleicht besser gesagt, wenig sauerstoffliebenden Bakterienart. Dieselbe zeigt die beste Schleimentwicklung bei 21—22° C und mäßigem Luftzutritt. Als Stickstoffquellen kommen für diese Mikroben nur die Milcheiweißkörper und Peptone in Frage, während einfachere Verbindungen nicht ausnutzbar sind. Der Schleim ist wahrscheinlich stickstoffhaltig und entsteht bei Darreichung von Laktose, Maltose, Galaktose und Dextrose als Kohlenstoffquelle.

Die schwedische Dichtmilch (tätmjölk), auch Zähmilch und Langmilch genannt, wird durch absichtliche Verschleimung von Milch hergestellt. Als Erreger der Schleimbildung kommt hier eine dem „Streptococcus hollandicus" nahe verwandte Bakterienart in Frage, welche unter dem Namen „Bacterium lactis longi" näher untersucht und beschrieben ist und auch der Milchsäurebakterie „Bacterium Güntheri" außerordentlich nahe steht. Nur der Mangel der Schleimbildungsfähigkeit trennt beide letztgenannten Arten. Für Bacterium lactis longi liegt das Temperaturoptimum unter 20° C.

Wenn wir schon die rohe Milch als so reich an Bakterien erkannt haben, darf es nicht Wunder nehmen, wenn die Produkte derselben, wie

Rahm und **Butter** ebenfalls eine große Mikrobenflora aufweisen, da bei den Aufrahm- und Butterungsverfahren sehr viele Bakterien aus der Milch hineingelangen. Speziell der saure Rahm enthält reichlich Milchsäurebakterien. Außerdem findet bei der Herstellung und Aufbewahrung der Butter ebenfalls meist eine ausgiebige Infektion derselben statt, da sowohl von den Geräten und dem Gebrauchswasser als auch aus der Luft zahlreiche Bakterien und Pilze in die Butter gelangen. Da von vielen Seiten eine kräftig schmeckende Butter mit stärkerem Aroma gewünscht wird, pflegen seit langem manche Molkereien den sog. „Säurewecker“ zu verwenden. Dies geschieht besonders vor der Verbutterung pasteurisierten Rahmes. Als Säurewecker dient vornehmlich spontan sauer gewordene Magermilch und Buttermilch. In neuerer Zeit gebraucht man auch Zusätze von flüssigen Reinkulturen der Milchsäurebakterien und Aromaerreger. Besonders Milchstreptokokken werden dazu meist verwendet.

Alle genannten Umstände üben einen bedeutenden Einfluß auf den Bakteriengehalt der Butter aus. Derselbe wird dementsprechend auch sehr schwankend und variabel sein. Unmittelbar nach der Fertigstellung der Butterziegel ist die Bakterienzahl infolge des Durchknetens innen und außen gleich. Während des Aufbewahrens tritt aber eine gewaltige Änderung derselben ein, wie aus der folgenden kleinen Zusammenstellung zu entnehmen ist. Dieselbe ist in verkürzter Form aus Jensens Untersuchungen wiedergegeben.

Aufbewahrungstemperatur 18—20 ° C	Aufbewahrungsdauer	Bakterienzahl in 1 g Buttter	
		Oberfläche:	Inneres:
Süßrahmbutter:	Sofort nach der Herstellung:	2 500 000	2 500 000
	3 Tage:	35 000 000	19 000 000
	1 Woche:	8 240 000	18 000 000
	2 Wochen:	6 000 000	4 000 000
	4 „	4 000 000	1 000 000
	6 „	1 600 000	480 000
Sauerrahmbutter:	Unmittelbar nach der Herstellung:	13 000 000	13 000 000
	1 Woche:	16 000 000	2 000 000
	2 Wochen:	16 000 000	2 000 000
	4 „	3 000 000	640 000
Butter aus künstlich gesäuertem Rahm:	frisch	11 000 000	—
	1 Woche:	12 000 000	—
	1 Monat:	4 000 000	—
	2 Monate:	1 800 000	140 000

Im allgemeinen findet also in den ersten Tagen nach der Herstellung ein Ansteigen der Keimzahl statt, das außen größer ist als im Innern. Später sinkt die Keimzahl wieder ab, und zwar am raschesten bei der Süßrahmbutter und der Butter aus künstlich gesäuertem Rahm. Bei längerdauernder Aufbewahrung nimmt die Keimzahl im Inneren der Butter besonders stark ab, so daß gerade die verdorbene alte Butter am wenigsten Bakterien aufweist. Die Butter ist ja

auch wegen ihres geringen Gehaltes an Stickstoffverbindungen und der großen Fettmenge für die meisten Mikroben kein besonders günstiger Nährboden.

In der frischen Butter finden sich nun die meisten Bakterienarten wieder, die wir als Milchbakterien kennen gelernt haben. Auch hier übt die Temperatur insofern einen Einfluß aus, als höhere Temperaturgrade das Auftreten und die Vermehrung der Vertreter aus der Gruppe der „Milchsäurestreptokokken" fördern, während niedere Aufbewahrungstemperaturen eine reiche Vermehrung der Mikrokokken begünstigen. Außerdem finden wir in der Butter die Euterbakterien größtenteils wieder, die wir bei Besprechung der aseptisch gewonnenen Milch bereits erwähnt haben. Auch Vertreter der Coli- und Aerogenes-Gruppe zählen zu häufigen Befunden. Außerdem sind in der Butter von nicht sporenbildenden Bakterienarten noch öfter Bacillus prodigiosus, Proteusarten und verflüssigende, fluoreszierende Bakterienarten nachweisbar. Von sporenbildenden Mikrobenarten kommen in der Butter Heubazillen und Kartoffelbazillen nicht selten vor und ganz besonders aërobe und anaërobe Buttersäurebakterien.

Zu dieser gewöhnlich vorfindlichen Bakterienflora treten noch Strahlenpilze, Hefen und Schimmelpilze in mehr oder minder großer Anzahl hinzu, die sich bei der Aufbewahrung der Butter besonders in den oberflächlicheren Partien derselben entwickeln. Einen Überblick über die Zusammensetzung der Gesamtflora der allerdings gesalzenen Sauerrahmbutter gibt uns eine Zusammenstellung von Teichert[1], deren Zahlen Mittelwerten von 15 Proben entsprechen.

Milchsäurebakterien	8 599 000
Kleinzellige Torulahefen . . .	1 326 000
Oidium lactis	58 000
Rote Hefen	13 000
Kahmhefen	2 100
Penicillium glaucum	1 400
Mucor mucedo	500
Summe in 1 Gramm Butter	10 000 000.

Die in der Butter nun vorkommenden Pilzarten üben, abgesehen von chemischen und physikalischen Einwirkungen, auf die Haltbarkeit, den Geschmack, das Aroma und den Geruch derselben einen großen Einfluß aus. Aroma- und Geschmacksänderungen müssen dabei keineswegs immer von ein und derselben Art gleichzeitig hervorgebracht werden, wenn es auch vielfach geschieht. Aroma und Geschmack der Butter werden wahrscheinlich durch geringe Mengen von flüchtigen Nebenprodukten der Milchsäuregärung, den Spaltungsprodukten des Fettes und endlich durch Zersetzungsprodukte der Eiweißkörper hervorgebracht. Für das Aroma kommen in erster Linie von zahlreichen Bakterien gebildete Fruchtester in Betracht. Übrigens ist die Eigenschaft der Aromabildung mancher Bakterien sehr labil und abhängig von äußeren Kulturbedingungen, die wir noch keineswegs genügend kennen.

1) Zitiert nach Löhnis, Handb. d. landwirtschaftl. Bakteriologie, S. 304.

Zahlreiche Bakterien und Pilze beeinflussen den Geschmack und das Aroma der Butter aber sehr ungünstig und erzeugen die verschiedenen **Butterfehler**.

Von letzteren ist das Ranzigwerden der Butter wohl für die Praxis am wichtigsten. Dasselbe wird durch zweierlei voneinander getrennten Prozessen hervorgerufen. Der eine ist eine Oxydation des Butterfettes durch den Luftsauerstoff unter Beteiligung des Lichtes und hat deshalb mit der Mikroorganismentätigkeit nichts zu tun. Der zweite Vorgang, der das Ranzigwerden verursacht, geht auf Mikroben zurück, die mit Hilfe von fettspaltenden Enzymen, also Lipasen, eine Spaltung der fettsauren Triglyzeride herbeiführen und in der Folge noch eine tiefere Zersetzung der entstandenen Produkte bewirken. In der Praxis wird entsprechend der Aufbewahrung der eine oder andere Prozeß mehr in den Vordergrund treten oder beide gleichzeitig das Verderben der Butter herbeiführen. Wir wollen uns nur mit dem Ranzigwerden durch Mikroorganismen hier etwas näher beschäftigen. Gekennzeichnet ist das Ranzigwerden durch Organismentätigkeit dadurch, daß die Butter dunkler und durchscheinender geworden ist und daß sich in ihr freie, nichtflüchtige Fettsäuren in erheblicher Menge nachweisen lassen. Daneben finden wir meist noch eine kleine Menge verschiedener Buttersäurester. Dieselben entstehen immer dann, wenn das Ranzigwerden Mikroorganismen verursachen, die neben den Fetten auch gebundenes Glyzerin zu spalten vermögen, wie z. B. Penicillium glaucum oder der Pinselschimmel und das für ranzige Butter typische Cladosporium butyri. Außerden wurden in solcher Butter auch Mykodermen gefunden, die für eine ausgiebige Zerlegung des gebundenen Glyzerins unter kräftiger Esterbildung sorgen. Durch die Spaltung des Fettes entstehen flüchtige und nichtflüchtige Fettsäuren. Erstere verflüchtigen zum größten Teil und letztere bleiben zurück, soweit sie nicht einer tieferen Zersetzung unterworfen werden. Für die Spaltung des Fettes ohne Esterbildung kommen in erster Linie der Bacillus prodigiosus, fluoreszierende Bakterienarten und Oidium lactis in Betracht.

Das Ranzigwerden verläuft nun von Außen nach Innen, denn die dabei auftretenden Bakterien und Pilze sind durchwegs aërob, also sauerstoffbedürftig. Allerdings sollen in einigen Fällen auch sauerstoffscheue Bakterien und ein ebensolcher Saccharomyzet eine Fettspaltung in geringerem Umfange im Innern, also unter anaëroben Bedingungen, ausgelöst haben. Es muß dabei aber auch die Wirkung der in der Milch vorhandenen Lipase, die allerdings ebenfalls von Mikroben zum größten Teil stammen kann, in Berücksichtigung gezogen werden. Der Vorgang der Fettspaltung geht überhaupt noch lange weiter, wenn die lipolytischen Bakterienarten schon verschwunden sind, da ihre Lipase weiter wirkt.

Andere Butterfehler machen sich durch einen „öligen“, fischigen oder „rübigen“ Geschmack geltend. Man spricht dann von **öliger, fischiger oder rübiger Butter**, die durch Bacillus foetitus lactis und andere Arten erzeugt wird. Für erstere kommen besonders die fluoreszierenden Bakterienarten in Betracht, die auch bei tieferer Temperatur sich vermehren können und die Fettspaltung durchführen. Ölige oder fischige Butter entsteht gerade in niedereren Temperaturen. Man beobachtet dann noch bittere Butter, Faßbutter mit „staffigem“ Geschmack und auch

Butter mit einem „dumpf-bratigem“ Geruch und Geschmack usw. Alle diese unerwünschten Veränderungen werden meist durch Bakterien hervorgerufen.

Außer den genannten Geruchs- und Geschmacksveränderungen der Butter können durch Mikrobentätigkeit auch **Verfärbungen** derselben herbeigeführt werden. Einige Beispiele solcher seien kurz erwähnt.

Das Bacterium butyri rubri Stadlinger und Poda erzeugt in der Butter erdbeerfarbige Flecke und Nester. Es handelt sich bei dieser Bakterienart wahrscheinlich um eine dem Bacillus prodigiosus nahestehende Wasserbakterie.

Rotfleckige Butter entsteht durch eine Rosahefe, während Saccharomyces flava lactis Krüger einen gelben Überzug auf Butter erzeugt. Man hat auch Butter mit braunen und blauschwarzen Flecken beobachtet, die durch Schimmelpilze hervorgebracht werden.

Ein anderes, für die Praxis sehr wichtiges Milchprodukt ist der Käse, der in den verschiedensten Sorten hergestellt wird, wobei ebenfalls Mikroorganismen wesentlich beteiligt sind. Der **Bakteriengehalt der Käsesorten** ist nun ebenfalls sehr verschieden. Auf die Anzahl der Bakterien sind von Einfluß der ursprüngliche Keimgehalt der Milch und die Infektion bei der Herstellung. Letztere hängt wieder ab von der Reinheit der in der Käserei verwendeten Geräte, dem Mikrobengehalt des Gebrauchswasser, dem Keimgehalt der Luft des Käsereiraumes und endlich von einem absichtlichen Zusatz gewisser Bakterien, die für das Entstehen eines bestimmten Endproduktes notwendig sind. Auch die Art des Dicklegens, ob dieselbe mit sogenanntem Naturlab oder Kunstlab oder endlich durch Säuerung geschieht, übt einen wesentlichen Einfluß auf die Zahl der Bakterien im Käse aus. Wie die Bakterienflora und Mikrobenzahl der Milch auch vom Futter der Tiere bis zu einem gewissen Grade abhängig ist, so zeigt sich dies auch beim Käse, der aus solcher Milch bereitet ist.

Die absolute Zahl der im Käse vorhandenen Bakterien ist im allgemeinen nur wenig kleiner, als derjenige der Milch, da beim Dicklegen die meisten Bakterien in den Quarg oder Bruch übergehen. Sie ist, in ihrer Abhängigkeit von der Milch, dementsprechend in dem eben bereiteten, noch nicht gereiften Käse sehr schwankend. Während des Reifungsprozesses steigt die Bakterienzahl anfangs sehr in die Höhe und fällt in der Folge meist unter die Anfangsmenge. Die äußeren Partien des Käses und besonders die Rinde sind an gereiftem Käse enorm bakterienreich. Über den Keimgehalt in den verschiedenen Stadien der Reifung bekannter Käsesorten gibt uns die folgende Zusammenstellung nach Angaben von v. Freudenreich, Thöni für Emmentaler Käse und Harding und Prucha für Cheddarkäse einen guten Einblick.

(Tabelle s. S. 213).

Besonders anschaulich werden die dabei in bezug auf die Bakterienzahl herrschenden Verhältnisse, wenn wir mit den obigen Zahlen eine Kurve konstruieren, in der auf der Abszisse die Reifungstage und auf der Ordinate die Keimmengen aufgetragen sind. Die vollausgezogene Linie entspricht den Keimzahlen im Emmentaler Käse I, die gestrichelte denjenigen in der Probe II und die strichpunktierte denjenigen

1 g Käse	Reifungsdauer	Keimzahl in Millionen	Anmerkung
I. Emmentalerkäse. Zahlen nach v. Freudenreich. Innere Partien	Bruch	0,75	Untersuchung mit Molkengelatine
	8 Tage	1,56	
	14 „	8,60	
	27 „	40,60	
	71 „	28,80	
	91 „	19,10	
	136 „	5,50	
II. Emmentalerkäse mit Kunstlab dickgelegt. Nach Thöni. Innere Partien	Bruch	2,50	
	1 Tag	146,25	
	10 Tage	60,00	
	28 „	20,00	
	44 „	42,50	
	140 „	2,55	
III. Emmentalerkäse mit Naturlab dickgelegt. Nach Thöni. Innere Partien	Bruch	8,30	
	1 Tag	450,00	
	10 Tage	62,50	
	28 „	130,00	
	44 „	53,75	
	140 „	33,75	
IV. Cheddarkäse aus angesäuerter Milch bereitet. Nach Harding und Prucha	6 Stunden	10,00	
	1 Tag	30,00	
	10 Tage	40,70	
	50 „	10,20	
	150 „	0,50	

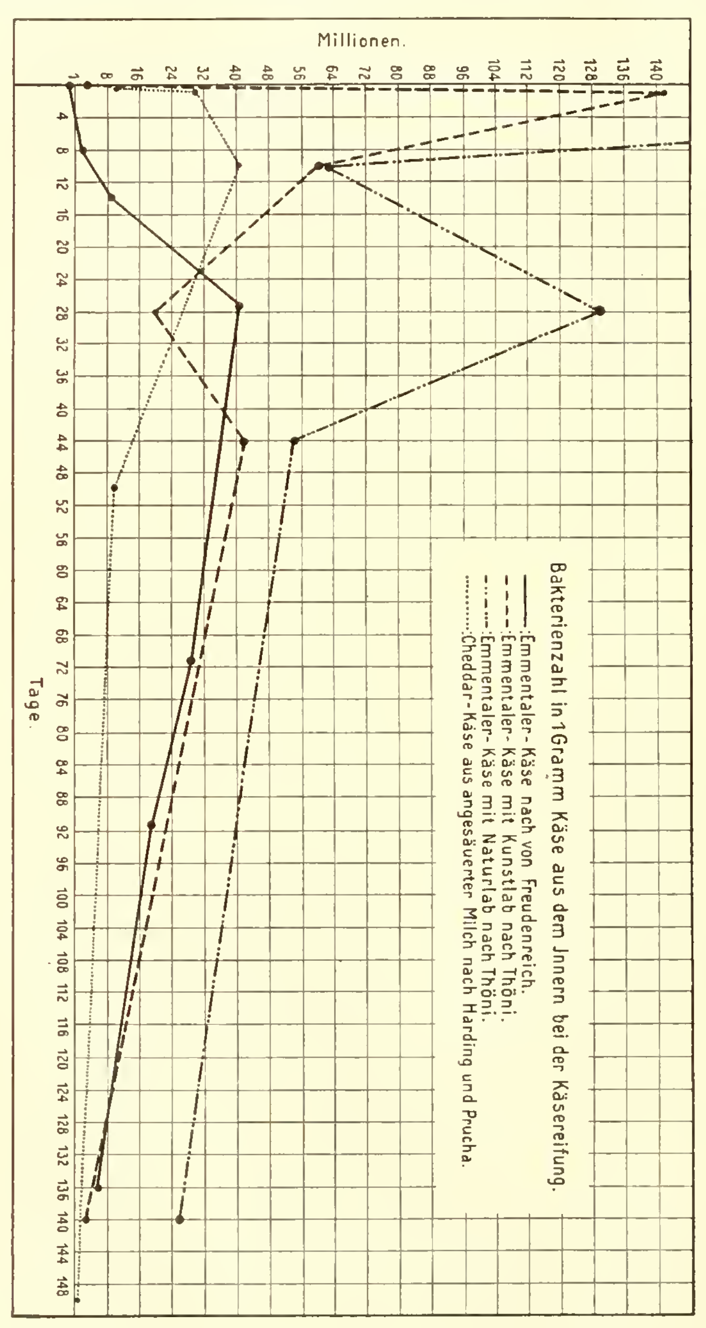
der Probe III mit Naturlab. Gerade in letzterem Falle ist ein sehr rapider Anstieg der Bakterienzahl nach den ersten 24 Stunden zu bemerken, die die ansehnliche Menge von 450 Millionen im Gramm erreicht. Um den Verlauf der einzelnen Kurven nicht zu verwirren, ist in diesem Falle nur der absteigende Ast eingetragen. Bei den Proben II und III macht sich in den folgenden 27 bzw. 44 Tagen ein nochmaliger Anstieg der Mikrobenzahl bemerkbar. Von da ab erfolgt dann der kontinuierliche Abfall bis zum Schluß des Reifungsprozesses. Die punktierte Linie markiert den Verlauf der Schwankungen der Keimzahlen beim reifenden Cheddarkäse. Hier erfolgt die Keimzunahme in den ersten 10 Tagen, worauf dann ein langsamer Abfall eintritt.

Auch in der Käserinde steigen in den ersten Zeiten der Reifung die Bakterienmengen ungeheuer an und erreichen viele hundert Millionen im Gramm. Später findet allerdings auch hier eine Abnahme statt, die aber niemals zu so niederen Mengen führt, wie im Innern. Die folgenden Zahlen nach den Untersuchungen von Troili-Petersson geben in diese Verhältnisse einen guten Einblick.

Darnach enthält die Rinde des Emmentaler Käses im Gramm nach 15 Tagen 14 000 000 000, nach 10 Monaten 15 000 000 000, nach einem Jahre aber nur mehr 146 000 000 Mikroorganismen.

Die Vermehrung der Bakterien ist auch im Käse von der herrschenden Temperatur abhängig. Es gelten hier dieselben Angaben, wie sie bereits für die Milchbakterien früher gemacht wurden. Da für die Käsereifung gewisse Bakterienarten von besonderem Einfluß sind,

so wird für die Reifung gerade jene Temperatur gewählt, die eine rasche Vermehrung und damit ein Überhandnehmen dieser Arten begünstigt.



Im Käse sind die Bakterien sehr ungleich verteilt. Wie zahlreiche Befunde beweisen, finden sich in den älteren Käsen die

Bakterien ungleich über die Käsemasse meist in Nestern und Gruppen verteilt, während die jüngeren Käseproben die Mikroben vornehmlich zerstreut enthalten. Gorini bezeichnet die erstgenannte Verteilungsart als „Anhäufungsform", die andere als „Zerstreuungsform".

Die **Käsereifung** selbst ist ein komplizierter Vorgang, der sicherlich nicht durch eine einzige, bestimmte Bakterienart durchgeführt wird, sondern durch das Neben- und Hintereinanderauftreten zahlreicher Bakterienarten entsteht. Dabei wollen wir unter Käsereifung jene Summe von Prozessen verstehen, die sich an dem Milchzucker und an den stickstoffhaltigen Verbindungen des Bruches abspielen und dadurch jenes Produkt entstehen lassen, das wir als Käse bezeichnen. Dieser weiten Fassung des Begriffes entsprechend kann man drei Phasen der Käsereifung auseinanderhalten.

In der ersten Phase, der Vor- oder Anfangsgärung, treten die echten Milchsäurebakterien in den Vordergrund. Sie leiten in diesem Stadium der Reifung eine kräftige Milchsäuregärung ein. Am zahlreichsten sind in diesem Stadium die „Milchsäurestreptokokken" und in Sonderheit bei den Hartkäsen Vertreter des Bacterium caucasicum. Sie kommen mit dem Lab auch aus dem Kälbermagen in nicht unbeträchtlicher Menge in den Bruch. Ihre Vermehrung wird im Bruch der Hartkäse auch dadurch besonders gefördert, daß die Masse nicht durchlüftet ist und so von außen her kein Sauerstoff zutritt, wodurch diesen anaëroben Bakterienarten innerhalb weniger Tage ein fast bis zur Rinde reichender sauerstoffreier Nährboden geboten ist. In den Weichkäsen scheint allerdings eine schwache Durchlüftung der ganzen Masse stattzufinden, da auch in den innersten Partien noch Spuren von Sauerstoff jederzeit nachweisbar sind. In einigen Fällen sorgt man sogar für eine mäßige Durchlüftung, wie beispielsweise bei der Reifung des Roquefortkäses. Besonders zu Beginn der Reifung treten auch die Milchsäuremikrokokken in erheblicher Menge auf, von denen die verflüssigenden Arten sicherlich an den Reifungsprozessen teilhaben. Die Milchsäuregärung verläuft in den Hartkäsen meist innerhalb weniger Tage, während sie in den Weichkäsen und Sauermilchkäsen längere Zeit fortdauert, was bei der großen Menge Milchzucker, die der Weichkäsebruch enthält, nicht wunder nehmen kann.

Die zweite Phase der Käsereifung, die „Hauptgärung", ist durch die Umsetzungen der Eiweißstoffe und der entstandenen Milchsäure gekennzeichnet. In dieses Stadium fällt auch die Lochbildung zahlreicher Hartkäse. Das Verschwinden der Milchsäure erfolgt einerseits durch Bindung derselben an die mehrbasischen Kalziumphospate und an den Käsestoff, andererseits durch Aufzehrung derselben von den Bakterien selbst und von Schimmelpilzen, die sie und die Laktate als Kohlenstoffquelle benützen. Außerdem spielt dabei auch die Bildung von Ammoniumlaktat eine Rolle, da bei der Umsetzung des Parakaseins beträchtliche Mengen von Ammoniak entstehen, was besonders für die äußeren Partien der Weichkäse zutrifft. Die Eiweißstoffe der Käsemasse erfahren einen teilweise recht tiefen Abbau. Die folgende Zusammenstellung[1]) der stickstoffhaltigen Abbauprodukte im Emmentaler

[1]) Zitiert nach Löhnis, Handb. d. landwirtschaftl. Bakteriologie, S. 359.

und Cheddarkäse gibt einen Überblick über die gewaltigen Umsetzungen und Spaltungen der Eiweißsubstanzen bei der Reifung.

Emmentaler Käse:		Chedderkäse:
Leuzin, Tyrosin, Phenylalanin, Alanin, Glykokoll, Amidovaleriansäure, Asparaginsäure, Pyrrolidinkarbonsäure,	Tryptophan, Histidin, Putreszin, Cadaverin, Cholin, Guanidin, Lysin (wahrscheinlich auch Arginin), Ammoniak.	Tyrosin, Oxyphenyläthylamin, Arginin, Histidin, Lysin, Guanidin, Putreszin, Ammoniak.

Indol und Skatol fehlen in allen feinen Käsen; wenn überhaupt, sind sie nur in sehr geringen Mengen zugegen.

Daneben finden sich natürlich große Mengen von Parakaseinverbindungen und geringere von komplexen Polypeptiden (Albumosen und Peptone).

Über die Verteilung des Stickstoffes auf lösliche Verbindungen, auf die Zersetzungsprodukte und endlich das Ammoniak geben uns die ermittelten Prozentzahlen Jensens einen Aufschluß, die hier angeschlossen sind.

Käseart:	In Prozenten der Gesamtstickstoffmenge sind:		
	Löslicher N:	N der Zusetzungsprodukte:	Ammon-N:
Emmentaler 12 Monate alt, innere Partie	33,15	17,35	2,37
Schweizer Magerkäse (reif), innere Teile	41,51	7,90	6,40
Roquefort, Durchschnittsprobe, reif	52,50	23,64	4,99
Camembert, reif, inneres . .	95,52	8,71	8,71
Limburger Käse, 6 Woche alt, Inneres .	24,82	5,27	4,37
Limburger Käse, 6 Woche alt, Äußeres .	55,10	12,58	4,51
Limburger Käse, reif, Äußeres	99,82	4,33	11,97

Die Mikrobenflora in den reifenden Käsen ist nun ebenfalls sehr verschieden und ausschlaggebend für das Endprodukt. Jedenfalls spielen bei der Reifung eine Reihe hintereinander und nebeneinander tätige Mikroorganismen eine Rolle, da wir durch Variation der Flora auch einen bedeutenden Einfluß auf den Geschmack und den Geruch des Käses und seine Konsistenz ausüben können. Wir haben es mit einer Summe von Vorgängen zu tun, deren Gesamterscheinung eben die Käsereifung ausmacht. Allerdings wirken dabei auch nichtmikrobielle Vorgänge mit, die auf Enzyme aus der Milch und dem verwendeten Lab zu beziehen sind, auf die wir hier nicht weiter einzugehen brauchen. Die Hauptwirkung kommt aber sicherlich den Mikroorganismen dabei zu. Für die verschiedenen Umsetzungen der Eiweißkörper im reifenden Käse kommen in erster Linie die peptonisierenden Mikrokokken und die säure-labbilden-

den Kokken in Frage, die auch zum großen Teil in dem Euter, bzw. in der aseptisch gewonnenen Milch schon vorhanden sind. Außerdem sind am Umsatz der stickstoffhaltigen Verbindungen die Vertreter der Gruppe Bacterium caucasicum, wie Bacillus casei ε Freudenreich, sicher stark beteiligt. Bei einigen wenigen Hartkäsen scheinen auch anaërobe Bakterienarten bis zu einem gewissen Grade wenigstens tätig zu sein. Viel öfter und in reicherer Menge findet man sie aber in Weichkäsen, wie z. B. in dem nach Limburger Art bereiteten Backsteinkäse, der das Paraplectrum foetidum Weigmann neben dem Clostridium licheniforme reichlich enthält. Allerdings wirken außen zahlreiche peptonisierende Stäbchen- und Kugelbakterien, die wir soeben oben nannten. Außer den genannten Bakteriengruppen sind an der Eiweißzersetzung noch Tyrothrixarten, Oidium lactis, Hefen und Schimmelpilze mehr oder weniger je nach der Käseart beteiligt.

Im Käse tritt bei der Reifung auch eine mehr oder minder ausgiebige Fettzersetzung ein. Bei derselben entstehen vornehmlich freie Fettsäuren, die nur zum Teil im fertigen Produkt noch vorhanden sind, da sie entweder durch Verdunstung schwinden oder auch von Mikroorganismen weiter zersetzt werden. Auch können sie mit Ammoniak sich umsetzen und auch andere neue Verbindungen eingehen, worauf beispielsweise das Entstehen von Buttersäureester zurückzuführen ist.

Die genannten Zersetzungen des Milchzuckers- bzw. der Milchsäure, der Eiweißstoffe und des Fettes liefern eine Reihe von Produkten in größerer oder kleinerer Menge, die für den Geschmack und den Geruch der Käsesorten ausschlaggebend sind. Vor allem sind die verschiedenen Fettsäuren wichtig, deren Herkunft und Menge in der folgenden Zusammenstellung von Jensen verzeichnet ist.

Käsesorte:	Äußeres	Inneres	1000 g enthalten in Grammen: Aus Fett entstanden: Capronsäure	Buttersäure	Durch Parakaseinspaltung oder Milchsäurezersetzung (Milchzucker) gebildet: Valeriansäure	Buttersäure	Propionsäure	Essigsäure	Ameisensäure	Gesamtmenge der flüchtigen Säuren	Gesamtmenge des Ammoniaks
Emmentaler . .	1	—	0,928	1,232	—	—	2,812	0,900	—	5,872	0,935
„ . .	—	1	0,116	0,176	—	—	4,218	1,680	—	6,190	1,275
Edamer . . .	—	1	—	—	—	—	0,224	0,678	0,057	0,959	0,255
Schweizer Magerkäse	1	—	1,682	2,552	—	—	2,775	1,080	0,046	8,135	3,528
Schweizer Magerkäse	—	1	0,986	1,496	—	—	2,405	1,200	0,138	6,225	4,548
Roquefort . . .	1	1	0,928	1,672	—	—	—	0,540	0,092	3,232	1,955
Camembert . .	—	1	0,081	0,246	—	—	—	0,069	0,082	0,478	2,975
Briekäse . . .	1	—	0,128	0,466	—	—	—	0,120	0,013	0,727	3,698
„ . . .	—	1	0,139	0,572	—	—	—	0,204	0,008	0,923	1,615
Romadourkäse .	1	—	0,232	1,003	1,550	—	4,529	0,822	0,046	8,182	3,740
„ .	—	1	0,058	0,440	1,581	—	5,180	1,140	0,046	8,445	3,409
Glarner Schabzieger . . .	1	1	1,195	1,848	—	4,452	9,102	3,198	—	19,795	3,655

Wir entnehmen daraus die große Verschiedenheit der Mengen flüchtiger Fettsäuren in den untersuchten Käsesorten. Im Käse finden sich meist nur Spuren von Alkoholen, in manchen Fällen aber auch nennens-

werte Mengen. Neben dem durch Milchsäurebakterien entstandenen Äthylalkohol können anwesende Buttersäurebakterien auch geringe Quantitäten von Butyl- und Propylalkohol erzeugen; auch Amylalkohol kann von anderen Bakterienarten gebildet werden.

Die Reifungserreger liefern also eine Reihe von besonders schmeckenden Stoffen, die dem betreffenden Käse seinen eigentümlichen Geschmack verleihen. Als geschmackgebende Produkte der Erreger der Käsereifung können wir nennen: geringe Mengen von Alkohol, Azeton, Estern von flüchtigen Säuren und Milchsäure als stickstoffreie Verbindungen, dann Aminosäuren (Amidovaleriansäure, Glykokoll, Alanin), die dem Käse einen süßlichen Geschmak geben, und in minderwertigen Käsesorten das capron-, capril- und caprinsaure Ammoniak und Ammoniak allein.

Es können sich im Käse während der Reifung aber auch spezifische Aromabildner etablieren. die den einer bestimmten Käsesorte eigentümlichen Geschmack und Geruch erzeugen, der meist auf noch wenig bekannte Stoffe zurückgeht. So erzeugt der den Tyrothrixarten nahestehende Bacillus nobilis und auch der Bacillus bernensis Burri in Milchkulturen einen feinen Emmentaler Käsegeruch. Auch der Micrococcus casei liquefaciens aus Emmentaler Käse muß als Reifungserreger und gleichzeitig spezifischer Aromabildner angesehen werden. Ähnliche Erscheinungen gewahren wir auch an vielen anderen Milchsäurebakterien, ohne weiter auf Beispiele einzugehen. In zahlreichen Fällen fungieren höhere Pilze, Hefen und Schimmelpilze als Aromaerzeuger. So erzeugt das spezifische Aroma des Roquefort-Käses eine Varietät des Penicillium glaucum, das Penicillium roqueforti im Verein mit Oidium lactis. Eine Hefe, die aus Harzkäse isoliert wurde, bringt beim Wachstum auf Kasein mit Milchsäure einen ausgesprochenen Harzkäsegeruch hervor. Auch hier gibt es noch zahlreiche andere Beispiele, auf die hier einzugehen zu weit führen würde.

In dem Stadium der „Hauptgärung“ finden aber auch jene Konsistenzänderungen statt, die das Endprodukt kennzeichnen. Während der Reifung verliert der Käse einen großen Teil seines Wassergehaltes; außerdem nimmt der Käseteig entsprechend der Überführung des Parakaseins in die lösliche Form einen geschmeidigen, plastischen und sogar zerfließlichen Zustand an, der besonders bei den Weichkäsen ausgesprochen ist. Die sich unter Kohlensäureabgabe abspielenden Prozesse erzeugen bei der Reifung im Teig kleine und größere Hohlräume und Löcher, die man gewöhnlich als „Augen“ bezeichnet. Dieselben treten besonders in einigen Hartkäsen auf. In denselben findet man Tropfen einer Flüssigkeit, die alle löslichen Produkte des Käses in reichem Maße enthält. Man nennt diese Tropfen „Tränen.“ Sie scheinen dadurch zustandezukommen, daß infolge der Lösung des Parakaseins bei der Reifung die Masse poröser und für Flüssigkeiten durchgängiger wird, die sich dann in den durch Gasbildung entstandenen Hohlräumen, „Augen“, ansammeln. An der Wand der Hohlräume sitzen sehr häufig die sogenannten „Salzsteine“. Dieselben sind körnige Häufchen, die sich mitunter reichlich im Emmentaler Käse finden und der Hauptmenge nach aus Tyrosin bestehen.

Während des Reifungsvorganges treten auch Farbenveränderungen sowohl im Innern als auch besonders an der Rinde auf. Die-

selben hängen einerseits mit dem Durchsichtigerwerden des Käsestoffes bei der Reifung zusammen, andererseits mit dem Auftreten bestimmter Bakterien und Pilze, die entweder der Käserinde ihre für die Sorte charakteristische Farbe verleihen oder gefärbte Zonen und Streifen im Innern erzeugen. So entstehen die graugrünen Nester im Gorgonzola und die grüne Marmorierung an der Schnittfläche des Roquefortkäses durch bestimmte Penicilliumarten. Die unbestimmt braungelbe bis braungraue Färbung der Rinde von den Hartkäsen ist nicht auf Bakterienfarbstoffe zurückzuführen, sondern auf ein Nachdunkeln des Käseteiges durch das Trocknen und Salzen. Eine Ausnahme macht der Edamer Käse, dessen Rinde künstlich gefärbt wird. Die Färbung der Rinde von Weichkäsen geht dagegen auf die Pigmente zahlreicher Bakterien und Pilze zurück.

Die dritte Phase der Käsereifung, die „Nachgärung", ist dadurch gekennzeichnet, daß die Anzahl der lebenden Mikroorganismen sehr absinkt und die noch stattfinden Umsetzungen nur mehr durch die noch vorhandenen und hauptsächlich aus den toten Bakterienleibern stammenden Enzyme bewerkstelligt werden. Es treten dabei nur mehr weniger grob wahrnehmbare Zersetzungen ein, die zur vollen Reife des Produktes führen.

In der Käserei stellen sich nicht allzuselten abnormale Vorgänge ein, die zu schweren Fehlern des fertigen Käses führen. Solche betreffen in erster Linie die Konsistenz, dann den Geschmack und Geruch und endlich die Farbe des Produktes.

Eine ziemlich häufig auftretende Erscheinung ist das **Blähen** des Käses. Dasselbe ist meist auf eine übermäßige Gasproduktion während der ersten Reifungszeit, also während der Pressung, zurückzuführen. Manchmal tritt es auch im späteren Verlaufe der Reifung ein, was aber ein seltener Befund ist. Das Blähen geht auf eine allzurasche und energische Entwicklung von Hefen und auch gasbildenden Milchsäurebakterien und Buttersäurebakterien zurück.

Fehlerhaft ist auch das vollständige Ausbleiben der Lochung bei den Käsen, die nach Art der Emmentaler Käse bereitet sind. In diesem Falle spricht man von „**blindem Käse**". Es soll dieser Käsefehler auf das Fehlen der Propionsäurebakterien im Teig beruhen.

Die **Gläsbildung** der Hartkäse offenbart sich in einer bröckligen und zu Spaltungen neigenden Beschaffenheit des Käseteiges bei Hartkäsen. Sie soll in einer zu starken Milchsäurebildung ihre Ursache haben und auch durch zu niedrige Temperaturen des Reifekellers und zu trockene Luft desselben begünstigt, wenn nicht ausgelöst werden.

Durch die Ansiedlung schleimbildender Mikroorganismen in der Masse der Hartkäse kann dieselbe fadenziehend werden und auch sonst abnormale Reifeerscheinungen aufweisen. Die Urheber sollen vornehmlich schleimbildende Vertreter der Gruppe „Bacterium caucasicum" sein.

Weichkäse zeigen öfter eine zerfließliche Masse im ganzen oder nur streckenweise unter gelblicher Verfärbung dieser Stellen. Dabei tritt auch ein abnormaler Geruch auf. Als Erreger dafür gelten Varietäten des Oidium lactis.

Abnormale Verfärbungen sind ebenfalls am Käse nicht selten zu beobachten. Dieselben erstrecken sich entweder in Form von Flecken

oder Netzen durch die ganze Käsemasse hindurch oder sitzen nur an der Oberfläche. Sie können ihre Ursache entweder in beigemengten Metallen haben, die aus den Gefäßen bei der Bereitung unbeabsichtigt hineingelangen oder in Pilz- und Bakterienpigmenten. Auch Eisenbakterien sollen bei der Entstehung von dunklen Flecken im Käse neben anderen Bakterienarten beteiligt sein. Äußerliche braune Verfärbungen der Rinde gehen auf Bakterien und Schimmelpilze zurück. Für eine rote Farbe der Rinde kommen neben Bakterien auch Sproßpilze in Betracht.

Da man die genannten Käsefehler meist auf Infektionen von der Milch oder von außen her zurückführen konnte, so lag es nahe, auch in der Käserei das Reinzuchtsystem einzuführen. Man versuchte die passendsten Bakterien- und Pilzgemische, die besonders bei der Reifung beteiligt sind, schon bei der Dicklegung dem Bruche einzuverleiben und so die Reifung in bestimmte erwünschte Bahnen zu lenken oder in solchen zu erhalten und dadurch andere unbeabsichtigte Infektionen auszuschließen. Damit bezweckt man weniger die Erreichung eines noch vorteilhafteren Produktes als vielmehr eine ausreichende Sicherheit im Betriebe. Eine weitere Verbreitung hat die Anwendung von spezifischen Reifungskulturgemischen besonders in der Emmentaler Käserei gefunden. Nach den Untersuchungen von Freudenreich und seinen Mitarbeitern bewährten sich dabei Gemische von Bacterium casei ε und einer Mykodermaart sehr gut. Jensen empfiehlt auch als Reifungserreger bei höherer Temperatur wachsende Milchsäurestreptokokken und Propionsäurebakterien. Auch in den Betrieben für die Herstellung anderer Käsesorten werden heute schon vielfach bestimmte Reifungskulturen von vornherein der Käsemasse einverleibt

Literatur zur Vorlesung XVII.

Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, S. 234 ff., Berlin 1910.
Wolff, A., Ursache und Wesen bitterer Milch. Milchwirtschaftl. Zentralbl., S. 67, 1909.
Rühm, G., Die chemischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden der Milch. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene, Bd. 21, S. 14, 1910.
Weigmann, H., Abnormale Erscheinungen an der Milch und ihren Produkten. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 190.
Burri, R., Über einen schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium Güntheri und eine durch denselben hervorgerufene, schwere Betriebsstörung in einer Emmentaler Käserei. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 12, S. 386, 1904.
Jensen, O., Studien über das Ranzigwerden der Butter. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 8, 1902.
Weigmann, H., Das Reinzuchtsystem in der Butterbereitung und in der Käserei. Lafars Handb. der techn. Mykologie, Bd. 2, S. 293.
Jensen, O., Studien über flüchtige Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 14, 1904.
Weigmann, H., Gärungen der Milch und der Abbau ihrer Bestandteile. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 48.

ACHTZEHNTE VORLESUNG.

Buttersäuregärung. Zellulosegärung. Pektingärung.

Die durch mikrobielle Tätigkeit entstehende Buttersäure kann sehr verschiedener Herkunft sein. Wir haben schon gehört, daß die anaërobe Fäulnis der Eiweißkörper als Nebenprodukt Buttersäure liefert. Hier wollen wir uns nur mit der eigentlichen Buttersäuregärung näher befassen, die am Zuckermolekül einsetzt oder milchsaure Salze angreift.

Im Laufe der Zeit wurden zahlreiche anaërobe sporenbildende Bakterienarten beschrieben, die die Fähigkeit haben, Kohlehydrate unter kräftiger Buttersäurebildung zu vergären. Es hat sich nun herausgestellt, daß alle bekannt gewordenen Buttersäuregärungserreger sowohl in ihren chemischen Leistungen, als auch in ihren Formen sehr variable Bakterienarten sind. Schon Schattenfroh und Graßberger zogen dieselben in drei Hauptgruppen zusammen, die sie durch folgende Typen kennzeichneten:

1. Der bewegliche Buttersäurebazillus, der keine tieferen Eiweißzersetzungen herbeiführt, wohl aber Kohlehydrate intensiv unter ausgiebiger Buttersäurebildung vergärt.

2. Der Rauschbrand- und Gasphlegmonebazillus. Die Vertreter dieser Formen sind entweder beweglich oder unbeweglich, sporenbildend oder sporenlos, auch denaturiert, wie sich die beiden genannten Autoren ausdrücken, und vergären kräftig Kohlehydrate, ohne energische Eiweißfäulnis hervorzurufen. Die sporenbildenden Formen erzeugen nun vorwiegend Buttersäure, während die denaturierten Arten in größeren Mengen Milchsäure liefern.

3. Der Ödembazillus, bei dem die Buttersäuregärung mehr in den Hintergrund tritt und die Milchsäuregärung ausgesprochen ist. Daneben entsteht aus den Kohlehydraten noch reichlich Äthylalkohol. Er zersetzt die Eiweißstoffe tief und ist dementsprechend auch ein Fäulniserreger.

Als vierte Gruppe wird den bereits genannten noch die Fäulnisbakterie Bacillus putrificus Bienstock angeschlossen, der zwar kräftig Kohlehydrate in Milchsäure und Äthylalkohol vergärt, Buttersäure aber nur beim Eiweißabbau liefert.

Bredemann hat die verschiedenen unter den Namen Clostridium, Granulobacter usw. gehenden, anaëroben Buttersäurebakterien einer

gründlichen experimentellen Bearbeitung unterzogen und kam dabei zu dem Ergebnis, daß infolge der großen Variationsbreite dieser Arten dieselben am besten in eine einzige Gruppe, Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann, zusammenzustellen sind. Sicher gilt dies für die meisten sog. Clostridien und mit großer Wahrscheinlichkeit auch für die anderen als Arten aufgeführten Buttersäureerreger. Es hat sich für die meisten untersuchten Vertreter dieser Gruppe herausgestellt, daß sowohl die Formen als auch die chemischen Leistungen der einzelnen Art mindestens eben so große Unterschiede und Variationen aufweisen als die Unterschiede zwischen den früher aufgestellten Arten betragen. Es sind durchwegs anaërobe Bakterienarten, deren aërobe Zucht nur dann gelingt, wenn sehr große Mengen zur Verimpfung gelangen. Die Buttersäurebakterien vergären nun alle Kohlehydrate mit Ausnahme der Zellulose. Allerdings ist das Gärvermögen bei den einzelnen Stämmen verschieden. Immerhin gelingt es aber, durch genügend große Einsaaten die Buttersäurebakterien zur Vergärung auch schwer angreifbarer Kohlehydrate zu zwingen.

Bei der Vergärung der Kohlehydrate durch die verschiedenen Vertreter des Bacillus amylobacter und seiner Verwandten entsteht neben der Buttersäure noch Essigsäure, Propionsäure, Ameisensäure in geringen Mengen, während mitunter Rechtsmilchsäure oder inaktive Milchsäure in größerer Quantität auftritt. Weiteres finden sich als Gärprodukte noch höher siedende Alkohole. Butylalkohol konnte nur in einem Falle nachgewiesen werden. Diese Nebenprodukte zeigen sich sowohl bei den einzelnen Stämmen als auch bei ein und demselben Stamm in verschiedenem Maße. Diese Unterschiede sind von dem verwendeten Kohlehydrat abhängig. Die Vergärung erfolgt unter Entwicklung bedeutender Mengen von Kohlendioxyd und Wasserstoff. Als gemeinsame Eigenschaft aller Vertreter der Gruppe Bacillus amylobacter gilt ihr Stickstoffbindungsvermögen, das wir schon kennen lernten.

Die Morphologie und auch die Biologie dieser Arten haben wir bereits in der allgemeinen Formenlehre der Bakterien und bei der Stickstoffbindung kennen gelernt. Es erübrigt nur noch, etwas näher auf den Chemismus der Buttersäuregärung einzugehen, für die bisher ein Enzym nicht nachgewiesen werden konnte.

Für die Erklärung der chemischen Vorgänge bei der Buttersäuregärung sind die Ergebnisse der Versuche von Perdrix mit dem Bacterium amylocyma grundlegend, das bei der Vergärung von 16 Proz. Traubenzucker in einer Kalziumkarbonat enthaltenen Kultur 6,685 g Buttersäure und 1,775 g Essigsäure unter Bildung von Kohlendioxyd und Wasserstoff ergab. Dabei war in den ersten Tagen der Gärung das Verhältnis von $CO_2 : H_2 = 35 : 65$, später 48:52, während sich Buttersäure zu Essigsäure wie 26:74 und schließlich 85:15 verhielt. Nach Perdrix verläuft die Buttersäuregärung in drei Phasen nach folgenden Formeln:

1. $56\,C_6H_{12}O_6 + 42\,H_2O = 116\,H_2 + 114\,CO_2 + 30\,C_2H_4O_2 + 36\,C_4H_8O_2$.
2. $46\,C_6H_{12}O_6 + 18\,H_2O = 112\,H_2 + 94\,CO_2 + 15\,C_2H_4O_2 + 38\,C_4H_8O_2$.
3. $C_6H_{12}O_6 = 2\,H_2 + 2\,CO_2 + C_4H_8O_2$.

Nach den auf die Untersuchungen von Perdrix sich stützenden Ausführungen Kruses verlaufen dabei eigentlich drei Gärungen zeitlich getrennt voneinander.

Zuerst setzt eine Wasserstoffgärung des Zuckers ein, die sich durch die Formel

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,H_2O = 6\,CO_2 + 12\,H_2$$

ausdrücken läßt.

Wenn diese am Ende ist, beginnt die anaërobe Essiggärung, deren Verlauf folgender Formel entsprechen dürfte:

$$C_6H_{12}O_6 = 3\,C_2H_4O_2.$$

Den Schluß bildet dann die Buttersäuregärung, die am ausgiebigsten auftritt und im einfachsten Falle nach der folgenden Gleichung erfolgt, die schon Perdrix aufstellte:

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,CO_2 + 2\,H_2 + C_4H_8O_2.$$

Diese Annahmen gelten nur für diese reine Buttersäuregärung des Bacillus amylocyma. Viel komplizierter liegen die Verhältnisse bei der Butylgärung, deren Hauptprodukte Butylalkohol und Buttersäure sind. Für diese Kohlehydratumsetzung wurden einige Bakterienarten bekannt, wie beispielsweise der Bacillus orthobutylicus Grimbert, Amylobacter butylicum Duclaux, Granulobacter saccharobutylicum Beijerinck u. a. m.

Mit Kruse kann man sich die Umsetzungen nach Grimberts Analyse der Gärungsgase von Bacillus orthobutylicus etwa so vorstellen, daß bei der kombinierten Buttersäure-Butylalkoholgärung unter Zugrundelegung des Verhältnisses von $CO_2 : H_2 = 49{,}7 : 24{,}8$ oder $2:1$ einfach nach der obigen Formel Buttersäure und der nachfolgenden Gleichung Butylalkohol entsteht.

$$C_6H_{12}O_6 = C_4H_{10}O + 2\,CO_2 + H_2O.$$

Beide Gleichungen vereint werden den Verhältnissen am nächsten kommen, was ergibt:

$$2\,C_6H_{12}O_6 = 4\,CO_2 + 2\,H_2 + H_2O + C_4H_8O_2 + C_4H_{10}O.$$

Wir erhalten hier dasselbe Verhältnis der Gase: $4\,CO_2 : 2\,H_2 = 2:1$.

In vielen Fällen ist der Verlauf der Gärung aber durchaus nicht so einfach und dann müßte man zu anderen Gleichungen Zuflucht nehmen, um allen Verhältnissen gerecht zu werden.

Als Ausgangsmaterial für die Buttersäuregärung kann auch Kalziumlaktat dienen, wie schon einleitend bemerkt wurde. Auch die Vertreter der Gruppe Bacillus amylobacter haben dazu die Fähigkeit. Es gelingt diese Gärung auch in Reinkultur, wenn genügend große Einsaaten gemacht werden. Wir finden diese Eigenschaft aber vornehmlich bei aëroben Bakterienarten, wie Milchsäurebakterien, Kartoffelbazillen, Heubazillen u. a. Dabei entsteht Kalziumkarbonat und Wasserstoff.

Die Methan- und Wasserstoffgärung

von Zellulose und anderen organischen Kohlenstoffverbindungen kommt ebenfalls häufig vor. Besonders die Methangärung der Zellulose ist ein in der Natur weit verbreiteter Vorgang.

Dabei entstehen beträchtliche Mengen von Sumpfgas, die fast immer in Form von kleineren und größeren Bläschen aufsteigen, wenn man mit einem Stock in den Schlamm von Teichen und Sümpfen fährt, in denen viel Laubwerk u. dgl. sich am Grunde in Zersetzung befindet. Diese Methangärung erregen anaërobe sporenbildende Stäbchenbakterien, deren natürlicher Standort eben der Kanalschlamm und der Fluß- und Sumpfschlamm ist. Zellulosezersetzungen dieser Art finden aber auch im Darm der Tiere, besonders der Pflanzenfresser, statt, weshalb deren Kot ebenfalls reichliche Mengen solcher Bakterien enthält. Auch im feuchten Erdreich erfolgt eine ausgiebige Zersetzung der Zellulose.

Für die Zellulosevergärung kommen sicherlich eine Reihe von Mikroorganismen in Betracht, die wahrscheinlich auch nicht samt und sonders anaërob sind.

Nach den eingehenden Untersuchungen Omelianskis kann man experimentell die Methangärung der Zellulose leicht hervorrufen, indem man in einen geräumigen langhalsigen Kolben Filtrierpapierstreifen, etwas Kreide und eine anorganische Nährlösung (Kaliumphosphat 1 g, Magnesiumsulfat 0,5 g, Ammoniumphosphat oder -sulfat 1 g, Spur Natriumchlorid, 1000 dest. Wasser) bis zum durchbohrten Stopfen einbringt und dann mit Flußschlamm oder Pferdemist ziemlich reichlich impft. Nun schließt man ein S-förmig gekrümmtes Gasableitungsrohr an, mit dem die Gärungsgase in einem Eudiometerrohr aufgefangen werden. Die Versuchsanordnung beläßt man bei 30—35° C. Nach einer längeren Inkubationszeit, die immer mindestens 1—4 Wochen dauert, beginnt die Gärung aufzutreten. Es entsteht eine kräftige Gasbildung, während die Papierstreifen eine welke Beschaffenheit bekommen und schließlich fleckig werden. Dann zeigen sich in denselben Löcher, sie werden dünner, brüchiger und erscheinen vollkommen zerfressen. Figur 75 zeigt uns die Veränderung der Filtrierpapierstreifen nach verschiedenen Zeiten der Gärung. *1* entspricht dem unveränderten Streifen, während *2* eine leichte Durchlöcherung und Auffaserung aufweist, nachdem die Gärung 10 Tage in Gang war. Die Inkubationszeit betrug bei diesem Versuch 17 Tage, so daß also vom Beginne des Versuches bis zu diesem Stadium der Papierveränderung eine Zeit von 27 Tagen verstrich. Nach 8 Wochen zeigten die Filtrierpapierstreifen das Aussehen von *3*, waren also sehr stark zersetzt, vollständig fetzig und kaum mehr mit einem Drahthäkchen herauszufischen. Auch waren sie im Vergleich zur unvergorenen Probe bedeutend dünner und durchsichtiger geworden und die Reste zeigten eine schwach bräunliche Verfärbung. Die größere Durchsichtigkeit und Durchlöcherung ist im Mikroskop bei durchfallendem Licht besonders auffallend und gut sichtbar.



Fig. 75.

In Figur 76 sind zwei Photogramme wiedergegeben, von denen sich *1* auf das unzersetzte Filtrierpapier bezieht. Dasselbe enthält keine bei dieser

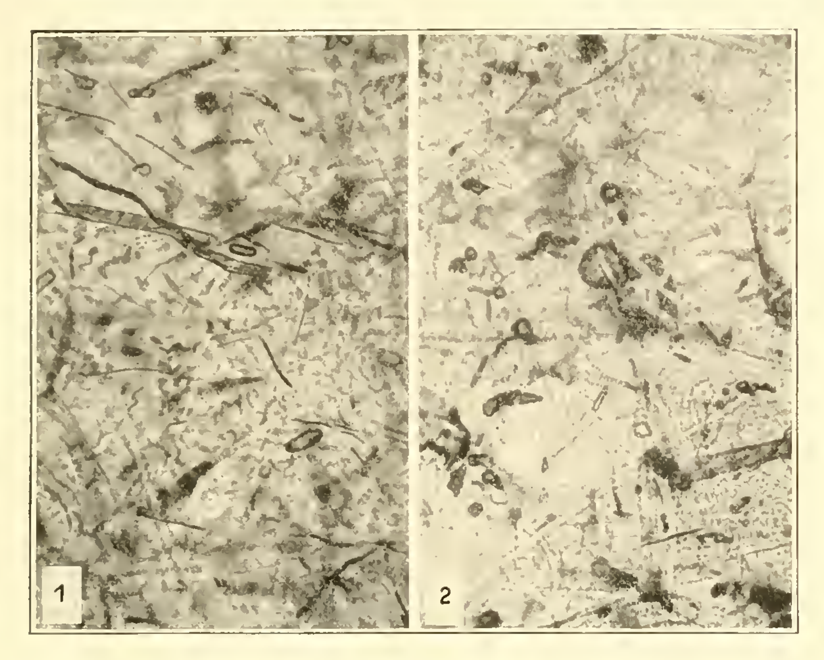


Fig. 76.

Vergrößerung sichtbaren Löcher und besteht aus einem dichten Fasergeflecht. *2* dieser Figur zeigt das Photogramm des angegorenen Papieres, entsprechend *3* der vorigen Figur, bei der gleichen Vergrößerung. Hier fällt sofort das dünne Gefüge auf und zahlreiche Lücken zwischen einzelnen gut sichtbaren, noch erhaltenen Faserzügen zeigen sich.

Wenn man nun von solchem zersetzten Filtrierpapierteilchen ein Präparat anfertigt, so sieht man die noch erhaltenen Faserreste dicht von Bakterien besetzt. Es sind kleine Stäbchen, die jedem Fäserchen massenhaft ansitzen. Unsere Figur 77 zeigt ein Mikrophotogramm aus einem solchen Präparat, in dem die Methangärungserreger der Zellulose gut zu sehen sind. In diesem Präparat findet man im Gesichtsfelde zerstreut noch eine Menge anderer Bakterienarten. Es handelt sich eben um die erste Rohkultur.

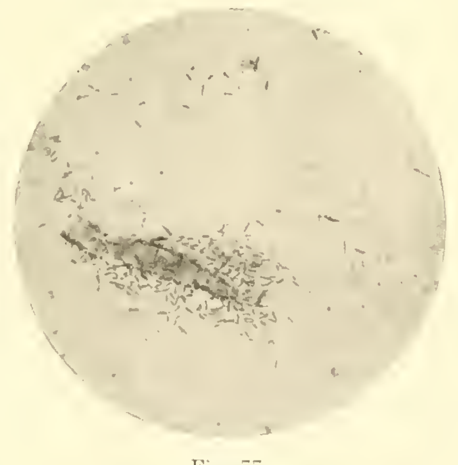


Fig. 77.

Wenn man nun in weitere gleich mit Nährflüssigkeit und Filtrierpapier beschickte Kolben von diesen zersetzten Filtrierpapierstückchen

überimpft, so erhält man eine immer reinere Methangärung. Die Erreger selbst, sind, wie schon gesagt Stäbchenbakterien, die keine Neigung zur Bildung von Wuchsverbänden aufweisen. Sie sind meist leicht gekrümmt und messen im Mittel 5 μ in der Länge und etwa 0,4 μ in der Breite. Sie bilden endständige Sporen, wobei meist die Plektridienform deutlich zur Ausbildung kommt.

Omelianski untersuchte auch quantitativ die Gärprodukte nach einer nahezu 4 Monate dauernden Zersetzung von schwedischem Filtrierpapier in einer mineralischen Nährlösung. Die Menge des gesamten zum Versuch verwendeten Papieres betrug 2,0815 g. Die Bilanz der ganzen Gärung ergab folgende Werte:

Zum Versuch verwendete Zellulose	2,0815 g
Davon blieben unzersetzt	0,0750 „
Demnach Menge der zersetzten Zellulose .	2,0065 g
Bei der Zersetzung gebildete Fettsäuren . . .	1,0223 g
„ „ „ „ Kohlensäure . . .	0,8678 „
„ „ „ gebildetes Methan	0,1372 „
Daher Summe der Gärprodukte	2,0273 g

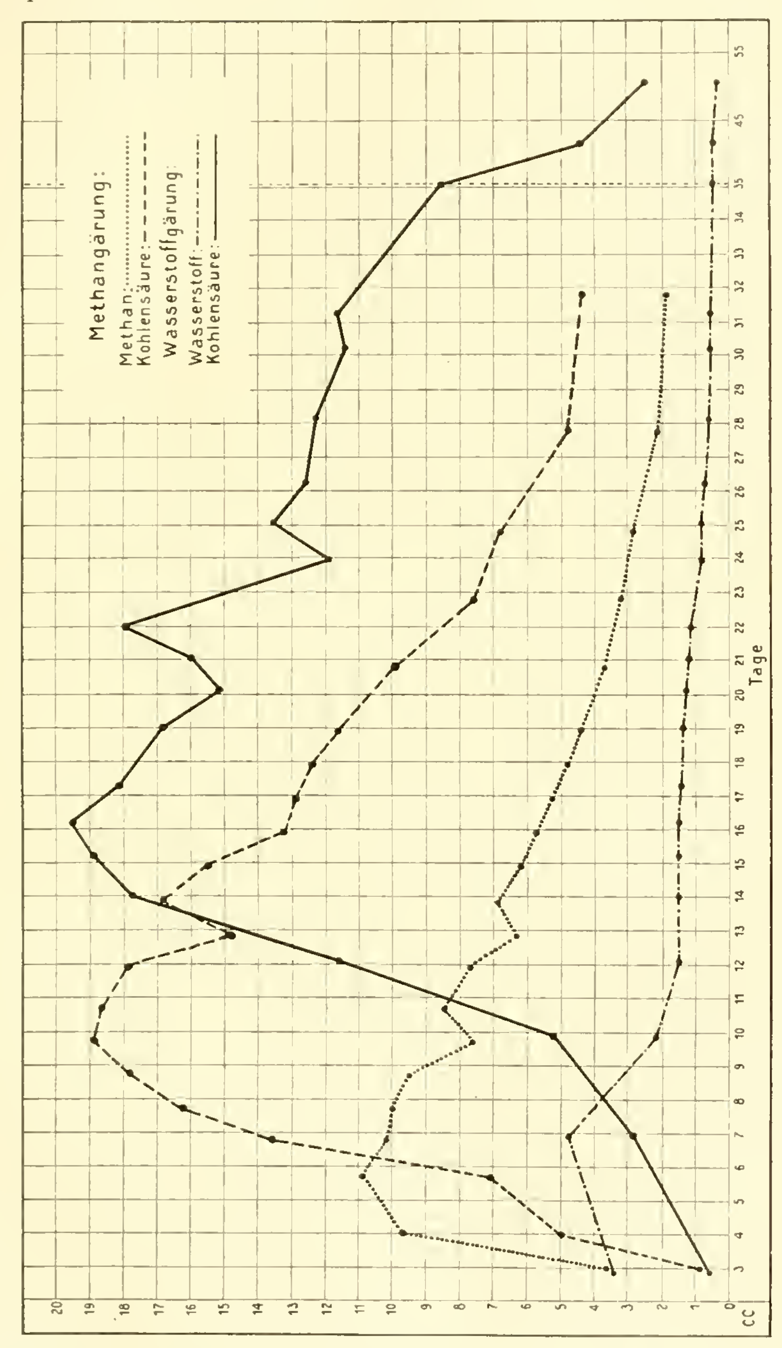
Aus dieser Gärungsbilanz geht hervor, daß die Menge der Kohlensäure diejenige des Methans bedeutend übersteigt. Außerdem ersieht man, daß die Gärung etwa gleiche Quantitäten an gasförmigen Produkten und Fettsäuren liefert; letztere sind vornehmlich Essigsäure und Buttersäure.

Die angegebenen Verhältnisse zwischen den Gärprodukten gasförmiger Natur sind aber keineswegs zu allen Zeiten gleich. In den ersten Tagen der Gärung ist die Methanmenge etwa dreimal so groß als die Kohlensäuremenge, dann etwa doppelt so groß und schließlich zwischen dem 6. und 7. Gärungstag etwa gleich. Erst von da ab nimmt die Kohlendioxydquantität sehr zu und überschreitet wesentlich die Menge von Methan. In der auf S. 227 befindlichen Kurve der CH_4- und CO_2-Bildung an den einzelnen Tagen des Versuches sind diese Verhältnisse deutlich zu erkennen. Es entspricht dem Methan die punktierte Linie und der Kohlensäure die gestrichelte Linie. Der Kurve sind die nach den Zahlen von Omelianski berechneten Tagesmengen an CO_2 und CH_4 zugrunde gelegt. Dieselben sind in Kubikzentimetern auf der Ordinate aufgetragen, während die Gärdauer in Tagen auf der Abszisse vermerkt ist. Die Kurve zeigt uns auch, daß das Maximum der Methanbildung zwischen dem 5. und 6. Tage liegt, während das CO_2-Maximum später auftritt. Im Gärverlauf bzw. in der Gasbildung machen sich mehrere Schwankungen bemerkbar, die aber im allgemeinen beide Gase annähernd gleich treffen.

Für die Sumpfgasgärung Formeln aufzustellen erscheint nach den bisher vorliegenden Untersuchungen noch verfrüht. Dazu kennen wir den Hergang in chemischer Hinsicht noch viel zu wenig.

Wenn man nun bei der Überimpfung aus der eben gut in Gärung befindlichen Rohkultur des Methanbakteriums eine $^1/_4$stündige Erwärmung des Impfmateriales auf 75° C einfügt, so pflegt sich in den folgenden Zuchten die Wasserstoffgärung der Zellulose festzusetzen, welche eine längere Inkubationszeit besitzt. Die Erreger der Methan-

gärung befinden sich nämlich schon in vegetativer Vermehrung und alle Sporen derselben sind schon ausgekeimt, während die Wasserstoff-



gärungserreger noch im Sporenstadium stehen. Die Erwärmung auf 75_0 vernichtet in dieser Zeit leicht die vegetativen Zellen des Methanbakteriums,

während die Sporen der wasserstoffbildenden Zellulosevergärer dieselbe schadlos ertragen. Schon nach der fünften bis sechsten so durchgeführten Abimpfung findet man eine praktisch reine Wasserstoffgärung.

Die Erreger derselben sind ebenfalls schlanke, zarte Stäbchen von 0,5 μ Breite und 4—8—15 μ Länge. An ihrem Ende zeigen sie zur Zeit der Sporenbildung eine Auftreibung, in der die ca. 1 μ große, kugelige Spore ausgebildet wird. Auch diese Bakterien sitzen der Papierfaser in großer Menge an. Sie vergären Zellulose unter Bildung von Kohlendioxyd und Wasserstoff, Buttersäure und Essigsäure.

Die Bilanz dieser Zersetzung der Zellulose ergibt nach Omelianski für einen größeren Versuch mit schwedischem Filtrierpapier folgende Verhältnisse:

Zum Versuch verwendete Zellulose	3,4743 g
Davon verblieben unzersetzt	0,1272 „
Daraus berechnete Menge zersetzter Zellulose . .	3,3471 „
Bei der Zersetzung gebildete Fettsäuren . . .	2,2402 g
„ „ „ „ Kohlensäure . . .	0,9722 „
„ „ „ gebildeter Wasserstoff . . .	0,0138 „
Summe der Zersetzungsprodukte	3,2262 g

Die Wasserstoffgärung der Zellulose liefert also wenig Wasserstoff gegenüber der Menge Kohlensäure. In den ersten Tagen des Gärungsprozesses ist das Verhältnis zwischen Wasserstoff und Kohlensäure allerdings gerade umgekehrt, da zu dieser Zeit drei bis viermal so viel an ersterem Gas gebildet wird. Um den 8. Tag des Gärverlaufes ist die Menge beider Gase annähernd gleich. In der Folge überwiegt dann bedeutend die Kohlendioxydproduktion, welche ihr Maximum zwischen dem 16. und 17. Tage der Gärung erreicht und dann unter kleineren Anstiegen allmählich absinkt. Die von denselben Gesichtspunkten aus auf Grund der von Omelianski gefundenen Zahlen für die in verschiedenen Zeiten entstandenen Gasmengen konstruierten Kurven auf S. 227 geben einen guten Einblick in diese Verhältnisse. Die strichpunktierte Kurve entspricht dem Verlauf der Wasserstoffbildung, die vollausgezogene demjenigen der Kohlendioxydbildung. Bis zur punktierten Ordinate entsprechen die einzelnen Marken der Abszisse Tagen; von da ab ist die Kurve aber zusammengezogen, um sie nicht allzulang auszudehnen. Deshalb entspricht der steile Abfall nach dem 35. Tage nicht ganz der Wirklichkeit.

Wie schon oben mitgeteilt, entstehen bei dieser Gärung neben den genannten gasförmigen Produkten noch große Mengen von Fettsäuren, welche diejenigen bei der Methangärung weitaus übersteigen. Es handelt sich dabei in erster Linie um Essigsäure, dann um Buttersäure, die sich in bezug auf die Moleküle wie 1,7 : 1 verhalten. Außerdem werden noch sehr geringe Quantitäten einer höheren Fettsäure gebildet, die wahrscheinlich Valeriansäure ist.

Auch die Wasserstoffgärung der Zellulose läßt sich vorläufig kaum in Formeln ausdrücken. Bei beiden Gärungen mit den beschriebenen Mikroorganismen konnte bisher ein Enzym nicht nachgewiesen werden, wenngleich wahrscheinlich eine Zellulase an diesen Vorgängen beteiligt ist.

Im Vergleich zur Methangärung ist die Wasserstoffgärung der Zellulose bedeutend schwächer. Auch in der freien Natur dürfte ersterer der Hauptanteil an der Zellulosezersetzung zukommen.

Omelianski untersuchte auch das Verhalten der Zellulose in Pflanzenstengeln gegenüber den Methanbakterien. Als Versuchsobjekt dienten ihm Leinstengel, die er zu Bündeln mit dünnen Platindrähten vereint in der oben bezeichneten mineralischen Nährlösung der reinen Methangärung unterwarf. Es wurde dabei die gesamte Zellulose herausvergoren, wie aus den Querschnitten bei schwacher Vergrößerung zu entnehmen war. Aus den beiden Mikrophotogrammen des genannten Autors, die in den Figuren 78 und 79 wiedergegeben sind, ist das deutlich zu ersehen. Figur 78 zeigt uns einen Querschnitt durch den unveränderten Flachsstengel, der außen unter der Epidermis die Bastfaserbündel deutlich erkennen läßt. Figur 79 entspricht dem Querschnitt des angegorenen Stengels, an dem von den Bastfasern nichts mehr zu erkennen ist.



Fig. 78.

Neben den genannten anaëroben Bakterien spielen auch aërobe Bakterien bei der Zellulosezersetzung eine nicht zu unterschätzende Rolle, wenn auch Reinzüchtungen derselben noch selten gelungen sind. Van Iterson isolierte ein ein braunes Pigment erzeugendes Bakterium, Bacillus ferrugineus, das Filtrierpapier ebenfalls vergor und dies besonders bei gleichzeitiger Gegenwart eines gelbwachsenden Mikrokokkus ausführte. Diese Begleitbakterie hatte aber selbst nicht die geringste Zellulose spaltende Eigenschaft. Es zeigt sich überhaupt in der Natur sehr häufig, daß Mikroorganismen beim Zusammenleben Umsetzungen und Zersetzungen hervorbringen, die die einzelne Bakterienart für sich allein nicht zu leisten vermag.

Eine **gemischte Methan-Wasserstoffgärung** erhält man auch durch Versetzen von Gummilösungen mit Schlamm. Nach den Untersuchungen von Popoff werden dabei unter Anwendung von Gummi arabicum, also einem Hexosan, 76,2—91,1 Proz. Kohlendioxyd, 6—6,5 Proz. Methan und 2,4—17,8 Proz. Wasserstoff als gasförmige Gärungsprodukte gebildet. Übrigens konnte Omelianski auch durch eine reine Methangärung Gummi arabicum zersetzen. Auch Pentosane, wie das Holzgummi, unterliegen einer Sumpfgasgärung.



Fig. 79.

Die genannten Zellulose- und Gummigärungen verlaufen am besten bei Temperaturen zwischen 30 und 36° C. Man beobachtete aber auch Gärungen von Zellulose und anderen Verbindungen dieser Art bei weit höheren Temperaturen, wie Hébert zeigen konnte. Er ließ

durch 3 Monate Stroh in einer 5proz. Ammonium-Kaliumkarbonatlösung, die mit Jauche infiziert war, bei 55° C vergären und erhielt eine Abnahme folgender Verbindungen entsprechend den Zahlen:

	Ursprüngliche Menge	Rest nach dem Gärversuch	Vergorene Menge
Zellulose	14,12 g	6,18 g	7,94 g
Vaskulose	14,10 g	11,75 g	2,35 g
Xylan	10,00 g	4,67 g	5,33 g

Diese Gärung verlief ebenfalls unter Methanbildung. Gasanalysen liegen aber nicht vor. Hier unterliegt besonders die Vaskulose, ein Umwandlungsprodukt des Holzstoffes, der Zersetzung, während Zellulose und Xylan weniger angegriffen werden.

Sumpfgasgärungen im großen Umfange haben sich auch bei der Bildung der **Kohle** abgespielt, denn darauf deuten die anzutreffenden Grubengasmengen in den Kohlenbergwerken hin. Jedenfalls sind wir aber nicht berechtigt, eine Steinkohlenbildung aus Zellulose durch die Methangärung anzunehmen. Viel wahrscheinlicher ist die Annahme Duclaux's, daß in der Kohlenformationszeit sich unter Wasser die Methangärung zwar abgespielt und den größten Teil der Zellulose zu den früher genannten Endprodukten vergoren hat, aber die Kohle selbst aus den dabei übrig gebliebenen Pflanzenstoffen, wie Fett, Kork und anderen Substanzen entstanden ist, wobei aber die Verkohlung auf Oxydationsprozesse zurückgeht. Das Gleiche gilt für die auch jetzt immer zu beobachtenden Verkohlungsprozesse von Grubenhölzern. Experimentell ist bei der Kohlenbildung die Tätigkeit von besonderen Mikroorganismen noch nicht festgestellt worden. Aus eventuellen Bakterienbefunden in Kohle kann gleichfalls auf ihren ursächlichen Zusammenhang mit dem Bildungsvorgang noch lange nicht geschlossen werden.

Für die Gewinnung der meisten Gespinnstfasern dikotyler Pflanzen, wie Hanf, Flachs, Jute usw., ist diejenige Gärung von einschneidender Bedeutung, durch die im Gewebe eine so weitgehende Lockerung der Bastfaserbündel herbeigeführt wird, daß sie für sich allein erhalten werden können. Man faßt diese Umsetzungen kurzweg als **Pektingärung** zusammen, da sie sich an den Pektinen vornehmlich abspielen. Dieselben setzen die Mittellamelle zusammen, durch deren Lösung eben die Isolierung der brauchbaren Bastfaserbündel vollzogen wird. Für den Gärungsvorgang hat sich die Bezeichnung Rotte, Röste und auch Rötze eingebürgert. Die Verfahren der Rotte sind nun verschieden. In unseren Gegenden findet entweder die Wasserrotte oder die Landrotte Verwendung. Bei ersterer werden die Flachs- oder Hanfbündel in stehendes oder mäßig fließendes Wasser für längere Zeit eingebracht, während bei letzterer die geschnittenen Faserpflanzen im Freien aufgelegt werden und nur durch Tau und Regen benetzt werden. Die Landrotte erfordert eine längere Zeit als die Wasserrotte. Manchmal kombiniert man beide Rotte-

arten in der Weise, daß man zuerst nur kurze Zeit im Wasser rottet und den Prozeß mit Hilfe der Landrotte zu Ende führt. Bei der Landrotte macht man noch einen Unterschied zwischen der sog. Taurotte und Winterlandrotte. Erstere wird im Frühjahr und Herbst durchgeführt, letztere im Winter, wo der Verlauf infolge der niederen Temperaturen ein besonders langsamer ist. Da die Rottemikroorganismen den betreffenden Pflanzen immer ansitzen, stellt sich bei genügendem Feuchtigkeitsgrad die Rotte immer spontan ein.

Nur bei der Wasserrotte spielen sich bakterielle Vorgänge in weiterem Umfange ab. Die Auflösung des pektinsauren Kalkes, also der Interzellularsubstanz, besorgen dabei eine Reihe von Bakterien. Überhaupt ist die Fähigkeit der Pektinvergärung eine im Reiche der Bakterien weit verbreitete Eigenschaft, wenn damit auch nicht gesagt sein soll, daß alle Pektinvergärer auch brauchbare Rottenerreger sein müssen. Ganz im Gegenteil kommen für die natürliche Rotte, also die Wasserröste, verhältnismäßig wenige Bakterien vornehmlich in Betracht. Jedenfalls ist es viel zu weit gegangen, in jeder pektinlösenden Bakterienart einen Rottenmikroorganismus zu erblicken. Im großen scheinen nur anaërobe und fakultativ anaërobe Bakterienarten die Hauptrolle bei der Rotte zu spielen. Daneben treten noch eine Reihe von Begleitbakterien auf, die natürlich insofern den Rottevorgang günstig beeinflussen können, als sie günstigere Sauerstoffspannungen in der Flüssigkeit herstellen werden, sofern sie Aerobier sind. Dies wird besonders im Beginne der Röste von Vorteil sein. Sicher haben wir in den Vertretern der Gruppe des Bacillus asterosporus A. Mayer sehr wirksame Rotteerreger vor uns, zu denen auch der Bacillus macerans Schardinger gehört. Auch Vertreter der Gruppe Bacillus amylobacter sind typische Rottebakterien.

Ob sich tatsächlich alle sporenbildenden und Granulose speichernden Arten, die für die Rotte beschrieben worden sind, als Varietäten des Bacillus amylobacter herausstellen, soll vorläufig noch nicht entschieden werden. Jedenfalls stehen sie dieser weitverbreiteten und vielseitigen Gruppe von Bakterien sehr nahe. Übrigens sind nur einige hier in Frage kommende Amylobakteren so beschrieben, daß an ein Wiedererkennen oder eine Vergleichung derselben gedacht werden kann.

Behrens isolierte einen Erreger der Wasserröste des Hanfes, der zu den Clostridien gehört und von ihm in physiologischer und morphologischer Hinsicht genau beschrieben wurde. Dieser sporenbildenden, anaëroben, beweglichen Stäbchenbakterie, die im Zustande der Sporulation intensiv Granulose speichert, können nur komplexe Polypeptide und Eiweißkörper als Stickstoffquellen dienen, während unter kräftiger Gasbildung die meisten Zucker- und Kohlehydrate mit Ausnahme von Xylose, Arabinose, Gummi arabicum, Quittenschleim, Zellulose und milchsaurem Kalzium vergoren werden. Speziell die Substanz der Mittellamelle des Hanfstengels wurde von diesem Clostridium gelöst, während diejenige des Flachses weniger angegriffen worden war.

Beijerinck und van Delden beschrieben als spezifischen Erreger der Wasserröste des Flachses das Granulobacter pectinovorum, ebenfalls eine anaërobe Bakterienart, die aber endständige Köpfchensporen ausbildet, im übrigen aber auch zur Zeit der Sporulation Granulose führt, wie schon der Name ausdrückt.

Störmer isolierte bei der Wasserrotte des Flachses ein Plectridium pectinovorum, das in vielen Beziehungen dem vorgenannten gleich oder ähnlich ist, und ihm sicherlich sehr nahe steht, obwohl es als fakultativ anaërob beschrieben ist und größere Sporen aufweist. Allerdings sind nach den neueren Untersuchungen Bredemanns über diese Bakteriengruppe derartige Abweichungen kaum mehr so bedeutungsvoll, daß die Aufstellung einer besonderen Art aus diesen Gründen gerechtfertigt wäre.

Neben den eigentlichen Rottebakterien siedeln sich noch zahlreiche Begleitbakterien an, von denen besonders die Wasserbakteriengruppe der Fluoreszentes und dann Vertreter der Coligruppe zu nennen sind. Außerdem kommen noch Vertreter der Gruppe Bacillus mesentericus und Bacillus subtilis dabei häufig vor, denen ein beträchtliches Pektinlösungsvermögen nicht abgesprochen werden kann.

Die Mikrobenflora bei der Landrotte muß den äußeren hier herrschenden Bedingungen entsprechend wesentlich anders sein. Vor allem herrscht überall Luftzutritt und aus diesem Grunde treten die Anaërobier, die die Wasserrotte beherrschen, hier in den Hindergrund. Dafür finden wir ein buntes Gemisch von Aërobiern, die in mehr oder minder ausgesprochener Weise die Interzellularsubstanz zu lösen vermögen. Vornehmlich findet man Vertreter der Gruppe Bacillus subtilis, mesentericus und coli, dann wieder fluoreszierende Bakterienarten und andere und reichlich Fadenpilze, denen der Hauptanteil bei der Rotte zukommt, was ganz besonders für den Mucor stolonifer gilt. Übrigens wird von den Fadenpilzen nicht nur die Mittellamelle gelöst, sondern auch die Zellulose vergoren, was aber deshalb weniger von Bedeutung ist, da die häufigsten unter ihnen, wie nach Behrens das Cladosporium herbarum, die Zellulose nur schwer und wenig angreifen.

Bei der in den Wintermonaten vorgenommenen Winterlandrotte ist die Mikroorganismenflora infolge der dabei herrschenden tieferen Temperaturen wieder anders zusammengesetzt. Die Bakterien treten in diesem Falle sehr zurück, während Fadenpilze, besonders der Mucor hiemalis Wehmer das Feld beherrscht.

Sobald die Rotte als biologischer Vorgang erkannt worden war, tauchten auch schon Bestrebungen auf, besonders die Wasserrotte durch Verwendung von Reinkulturen oder Rohkulturen der Rotteerreger zu verbessern und zu beschleunigen. Dieselben waren auch teilweise von Erfolg gekrönt. Jedenfalls läßt sich hier sowohl durch Verwendung besonderer Kulturen etwas erreichen, als auch durch Schaffung von Bedingungen während der Rotte, die das rasche Aufkommen der schon an den Pflanzenteilen von vornherein vorhandenen Rotteorganismen begünstigen. Dafür kann durch Zufügen von geringen Mengen Kalisalpeter (0,2 : 1000 H_2O) gesorgt werden. Das daraus entstehende Ammoniak stumpft einerseits etwa entstehende Säuren ab und dient andererseits in verschiedenen Verbindungen als Stickstoffquelle. Der Neutralisation von gebildeten Säuren, wie Butter-, Valerian- und Milchsäure dienen auch Zusätze von Alkalien oder Harnstoff, welch letzterer während der Rotte in Ammoniumkarbonat gespalten werden muß, sofern er überhaupt in diesem Sinne wirken soll. Auch Zusätze von Magnesium-, Kalzium- und Kaliumsalzen wurden zur Beschleunigung der Wasserröste empfohlen.

Um eine rasche Entwicklung der brauchbaren Amylobacterarten zu begünstigen, wählt man mitunter eine höhere Temperatur von 30—35° (Schenecksche Warmwasserröste), die diesen Bakterien besonders zusagt. Auch das Rösten in stehenden freien Wässern oder in großen Wannen und Behältern ermöglicht wegen dem in der Tiefe der Flüssigkeit bei deren Ruhe herrschenden Sauerstoffmangel eine gute Entwicklung der anaëroben Amylobakteren. Allerdings darf die Flüssigkeit nicht länger als ungefähr 24 Stunden in den Röstkufen verbleiben, damit sich nicht in dem zuckerreichen Pflanzenextrakt, der reich an ausgelaugten Nährstoffen der verschiedensten Art ist, besonders an der Oberfläche Zuckervergärer ansiedeln und die ganze Flüssigkeit säuern können. Dementsprechend wird bei diesem Röstverfahren ein ein- bis zweimaliger Wasserwechsel vorgenommen oder überhaupt ein sehr langsamer Strom fließenden Wassers hindurchgeschickt, der die Stoffwechselprodukte der Rotteerreger und die Pflanzenextraktivstoffe ständig abführt. Sehr günstig erweist sich auch eine zeitweilige Durchlüftung bei der Rottegärung, die sicherlich auch bei der in Belgien üblichen intermittierenden Rotte mitspielt.

Durch Einführung von Reinkulturen oder Gemischen von bestimmten Mikroben kann in erster Linie der Betrieb sicherer gestaltet und auch eine Beschleunigung erzielt werden. Die Sicherung des Betriebes bei der Wasserrotte, die ja unter niederer Sauerstoffspannung verläuft, richtet sich vornehmlich gegen das sehr schädliche gleichzeitige Auftreten der Zellulosegärung, die das Produkt sehr beeinträchtigen kann. Wenn man die normale Rottedauer bei der Wasserröste mit etwa 5 Tagen bemißt, so ist allerdings diese Zeit meist wohl zu kurz, um eine intensivere Zellulosegärung aufkommen zu lassen. Wie die nach den Störmerschen Angaben ausgeführten Versuche mit Nachimpfungen seines Plectridium pectinovorum in Verbindung mit den die Röste fördernden Begleitbakterien ergaben, läßt sich die Wasserröste noch wesentlich abkürzen, wenn überdies gleichzeitig für eine Abstumpfung der entstehenden Säuren durch Zusatz von Soda oder Kalziumkarbonat gesorgt wird. Folgende Zahlenangaben aus diesen Versuchen seien zur Illustrierung der Verhältnisse hier angeführt:

Röstdauer der natürlichen Röste ohne Zusatz	120 Stunden
„ nach Zusatz der Reinkultur von Plectrid. pectinov.	101 „
„ nach Zusatz der Reinkultur von Plectrid. pectinov. + Begleitorganismen	83 „
„ nach Zusatz der Reinkultur von Plectrid. pectinov. + Begleitorganismen + $CaCO_3$	75 „
„ nach Zusatz der Reinkultur von Plectrid. pectinov. + Begleitorganismen + Na_2CO_3	80 „
„ der natürlichen Röste + $CaCO_3$	85 „
„ „ „ „ + Na_2CO_3	75 „

Die Versuchsergebnisse lassen erkennen, daß die Schnelligkeit allerdings durch kräftige Beimpfung allein auch gesteigert werden kann, daß aber weiter die Abstumpfung der Säuren durch $CaCO_3$ fast ebenso beschleunigt und diejenige durch Soda auch das Minimum an Zeit für die Röste herbeiführt. In letzterem Falle dürfte neben der Neutralisation auch die von vornherein herbeigeführte schwache Alkaleszenz das Bakterienwachstum mächtig fördern, was gewiß die Beschleunigung des ganzen Vorganges auch ohne Beimpfung herbeiführt.

Literatur zur Vorlesung XVIII.

Weigmann, H., Die Buttersäuregärung. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 109 ff.

Kruse, W., Allgemeine Mikrobiologie, S. 350. Leipzig 1910.

Bredemann, Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann . . ., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 23, S. 385, 1909.

Omelianski, W., Die Zellulosegärung. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 3, S. 243.

Behrens, J., Untersuchungen über die Gewinnung der Hanffaser durch natürliche Röstmethoden. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 8, S. 114, 1902.

Störmer, K., Über die Wasserröste des Flachses. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 13, S. 35, 1904.

Behrens, J., Die Pektingärung. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 3, S. 269.

Löhnis, Fr., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, S. 98, Berlin 1910.

NEUNZEHNTE VORLESUNG.

Selbsterhitzung und Selbstentzündung. Tabakfermentation. Heu- und Sauerfutterbereitung. Kaffee- und Kakaofermentation. Mykologie der Gerberei.

Überall, wo größere Massen mehr oder weniger feuchter Pflanzenteile, Fasern tierischer und pflanzlicher Herkunft oder überhaupt zersetzungsfähige organische Substanzen sich zusammengelagert vorfinden, stellt sich eine **Selbsterhitzung** derselben ein. Allbekannt sind diese Erscheinungen an Heu- und Misthaufen, dann an großen Mengen gelagerter Baumwollabfälle u. dgl. Dabei kann die Erwärmung so weit steigen, daß es zu einer Selbstentzündung dieser Massen kommt. Alle diese Vorgänge sind teilweise biologischer und teilweise rein chemischer Natur.

Wenn es sich um frische, noch überlebende Pflanzenteile handelt, werden die Enzyme derselben noch einige Zeit weiter in Tätigkeit bleiben und durch den Atmungsprozeß beträchtliche Wärmemengen zu liefern vermögen. Außerdem spielt dabei gewiß eine Reihe Mikroorganismen mit, die wir kurzweg als thermogene Bakterien bezeichnen können. Wenn es sich um eine Selbsterhitzung bereits getrockneter oder vorher durch Hitze sterilisierter Pflanzenteile handelt, dann wird wohl die Hauptrolle bei der Erwärmung der Mikrobenflora zukommen, wie aus zahlreichen Versuchen der Forscher zu entnehmen ist. Daß sich dabei gewiß auch chemische Prozesse außer der mikrobiellen Tätigkeit abspielen, kann nicht geleugnet werden. Von ausschlaggebender Bedeutung sind letztere allerdings nur bei den über die Koagulationstemperatur des Eiweißes steigenden Erhitzungen der genannten Substanzen.

Wir wollen uns zunächst kurz mit einigen thermogenen Bakterienarten befassen, die bei den besser untersuchten Selbsterhitzungsprozessen neben höheren Pilzen gefunden werden. Für die Selbsterwärmung der Baumwollabfälle, Nissel genannt, welche sehr viel Schmutz enthalten, kommen nach Cohn, Mikrokokken in Betracht, durch deren Tätigkeit Temperatursteigerungen bis ca. 67° eintraten, sofern der Luftsauerstoff genügenden Zutritt hatte. Für die Erhitzung des Düngers und des Heues macht Cohn sporenbildende Stäbchenbakterien der Gruppe des Bacillus subtilis verantwortlich. Nach den

neueren Untersuchungen Miehes sind bei der Selbsterhitzung des Heues mehrere Bakterienarten und Pilze beteiligt, deren Betätigung vornehmlich durch die bereits erreichte Temperatur bestimmt wird. Darnach soll die erste, etwa 40° erreichende Erwärmung vornehmlich durch eine Varietät des Bacillus coli Escherich, den Bacillus coli Mig. forma foenicula, hervorgebracht werden. Beim weiteren Steigen der Temperatur verschwindet er, da sein Temperaturmaximum bei ungefähr 42° C liegt. Erst jetzt tritt der Bacillus calfactor neben den Schimmelpilzen Aspergillus niger und Mucor pusillus in den Vordergrund. Er führt die Erwärmung aber auch nur bis etwa 70° weiter und steht dann in der Entwicklung still. In der Figur 80 sind die wichtigsten morphologischen Merkmale des Bacillus calfactor nach den Untersuchungen Miehes wiedergegeben. Wir sehen in *A* dieser Figur eine Oberflächenkolonie desselben auf Heuagar. Der Bacillus calfactor ist ein bewegliches, mit wenigen Geißeln versehenes Stäbchenbakterium (*B* der Figur 89), dessen Wachstumsweite zwischen 30 und 70° C liegt, wie wir schon früher hörten. Er bildet endständige Sporen, die in *C* der Figur 80 abgebildet sind. Seine vegetativen Formen werden von der Temperatur sehr beeinflußt. Als dünnes, langes

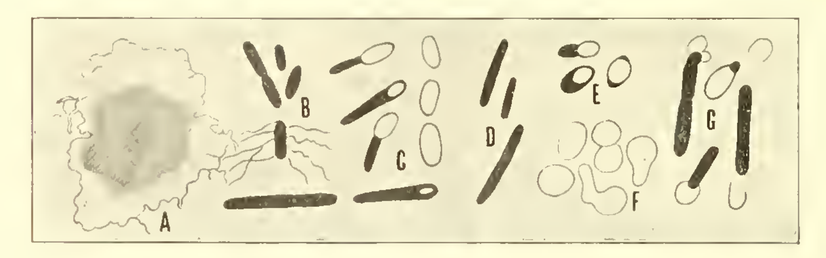


Fig. 80.

Stäbchen (5:0,4 μ) wächst er bei 70°, als kurzes und verhältnismäßig dickes Stäbchen beim Temperaturminimum. Wird eine Kultur desselben in tief unter dem Minimum liegende Temperaturen gebracht (8—11°), so wandeln sich die Stäbchen in kugelige und blasige Formen um, wie wir solche sonst dann zu sehen gewohnt sind, wenn wir Bakterienarten über dem Temperaturmaximum züchten. So sehen wir die schlanken Stäbchen beim Wachstum bei 70° in *D* der Fig. 81, während *E* die bereits sporentragenden verdickten Formen zeigt, wie sie in einer 4tägigen Zucht bei 30° zu beobachten sind. *F* gibt blasige Formen wieder, die schon nach 15 Stunden bei einem Aufenthalt in 8—11° C auftraten. *G* gibt uns ein Bild der Sporenkeimung, die polar erfolgt. Die mit der genannten Bakterienart angestellten Ernährungsversuche haben ergeben, daß dieselbe nur bei der Darreichung von Xylose oder Dextrin als Kohlenstoffquelle und von Ammoniak, eventuell auch wenig Pepton, als Stickstoffquelle annähernd so üppig gedeiht wie in Heuabkochungen.

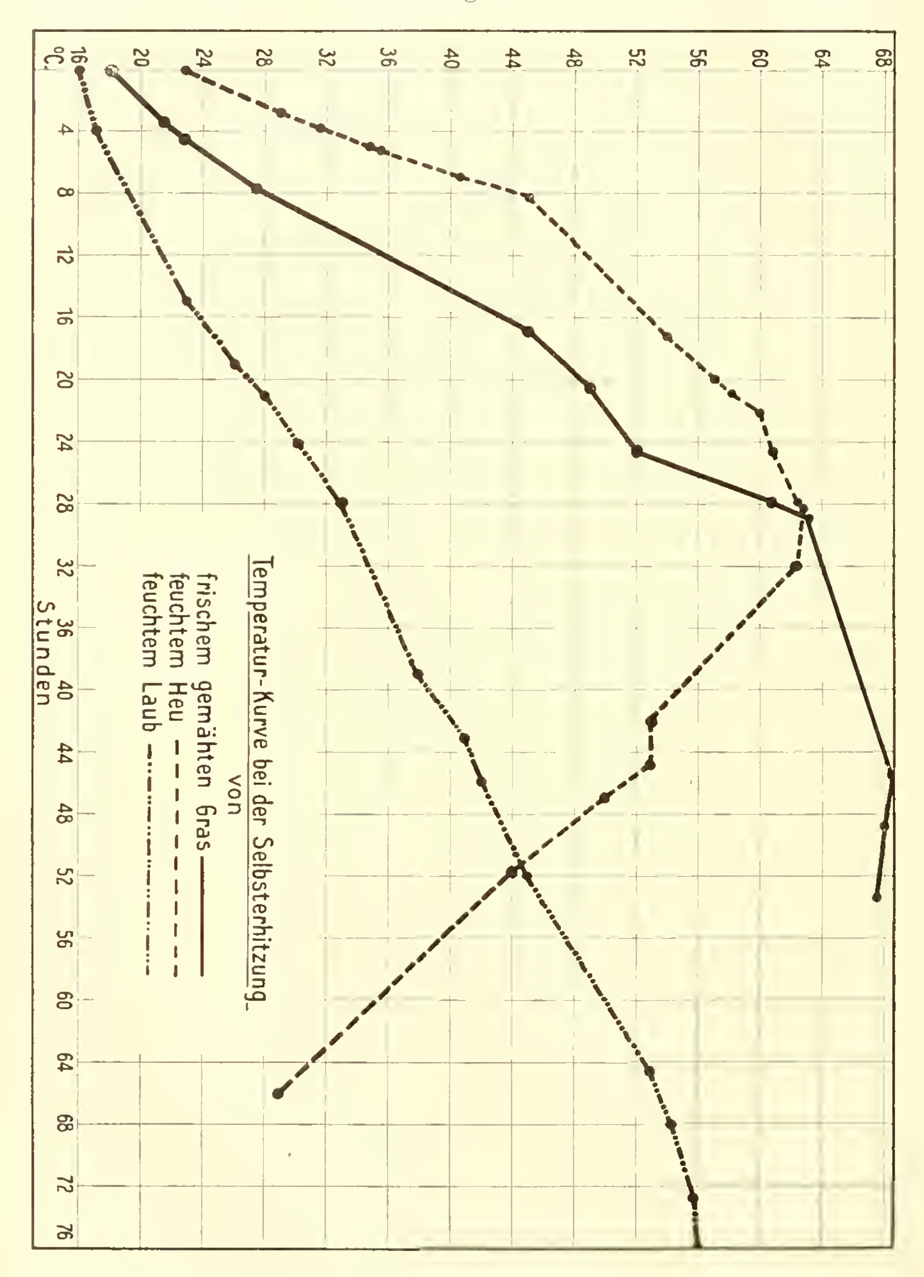
Nach den Versuchen Miehes an Gras, Heu und Laub verlaufen wenigstens bei diesen Stoffen die Erwärmungsprozesse in der Weise, daß meist in den ersten Stunden schon ein rasches Ansteigen der Temperatur in den inneren Partien der zusammengelegten Massen erfolgt,

sofern die Ausgangstemperatur derselben keine zu niedrige ist. In der graphischen Darstellung auf S. 238 sind diese Verhältnisse nach den Zahlenangaben Mieches wiedergegeben. Auf der Ordinate finden sich die Temperaturgrade verzeichnet, während die Abszisse die Zeitmarken trägt. Die gestrichelte Linie entspricht einem Versuch mit ziemlich feuchtem Heu, der im Sommer ausgeführt wurde. Die Außentemperatur betrug 23° C. In den folgenden 8 Stunden erfolgte ein rapider Temperaturanstieg auf 45°, von da ab stieg die Temperatur in den folgenden 14 Stunden auf 60° und erreichte nach weiteren 6 Stunden ihr Maximum mit 62,75°. Es wurde also die höchste Temperatur nach ungefähr 28 Stunden erhalten. In einem anderen Versuch mit frischgemähtem Gras, dem die voll ausgezogene Kurve der graphischen Darstellung entspricht, zeigte sich das Temperaturmaximum von 68½° erst nach etwa 54 Stunden. Im Verlauf sind sich beide Kurven aber ziemlich ähnlich und zeigen keine nennenswerten Unterschiede. Im zweiten Falle war aber die Ausgangstemperatur tiefer, denn sie betrug nur 18°. In einem weiteren Versuch mit abgefallenem, feuchtem, noch saftigem Laub fand die Temperatursteigerung nur langsam, aber dafür sehr gleichmäßig statt, so daß die graphische Darstellung fast eine Gerade ergab. Die strichpunktierte Linie zeigt uns den Verlauf bis zum Maximum, das erst nach 76 Stunden erreicht wurde. Bei diesem. Ende Oktober angestelltem Versuch betrug die Außentemperatur nur 16°. Die mit den Zahlen aus diesem Versuch konstruierte Kurve erscheint doch wesentlich verschieden von den beiden vorgenannten. Es fehlt das früher deutlich ausgesprochene ruckweise Steigen vollständig. Hier kann diesen gleichmäßigen Anstieg unmöglich die relativ tiefe Anfangstemperatur verursacht haben. Die Ursache dürfte eher in der Verschiedenheit des Substrates, in der überlebenden Atemtätigkeit desselben und gewiß auch in der anders zusammengesetzten Mikrobenflora, vielleicht auch in der Menge derselben zu suchen sein, worüber wir aber keine näheren Aufschlüsse haben.

In zahlreichen anderen Fällen treten ebenfalls nicht unbeträchtliche Temperatursteigerungen auf, wie unter anderen bei der Fermentation des Tabakes, bei der Lagerung von größeren Hopfenmassen, und auch in den Füllmassen bei der Zuckerfabrikation. In den beiden ersten Fällen scheint die Wärmesteigerung auf die Atemtätigkeit der Pflanzenteile selbst allein zurückzugehen und im letzteren Falle teils auf chemische Vorgänge, teils auf Bakterientätigkeit in den Füllmassen. Trotzdem finden sich aber in den erwärmten Massen zahlreiche Mikroorganismen, wenn sie auch für die Temperatursteigerung nicht in Betracht kommen. Die auf die anderen genannten Ursachen zurückgeführten hohen Temperaturen ermöglichen aber erst die Ausbildung und Ansiedlung der „thermophilen Pilzflora“, deren Vertreter hohe, über 40 bis 80° liegende Temperaturoptima aufweisen. Wir haben schon früher thermophile oder hitzeliebende Mikroorganismen kennen gelernt, weshalb hier darauf nicht mehr besonders eingegangen zu werden braucht.

Die früher genannten hohen Temperaturen führen nun einerseits zu einer Sterilisierung der sich spontan erhitzenden Massen, sofern die Erhitzung über 60° C steigt, andererseits haben in nur mäßig erwärmten Substraten, wie Dünger usw., viele pathogene Mikroorganismen Gelegenheit, sich außerhalb des Tierkörpers lebens- und vermehrungsfähig zu erhalten. Die Sterilisation kann natürlich

nur jene Mikroben treffen, deren Temperaturmaximum unterhalb der oben angegebenen Temperatur liegt, während die Sporen meist vollkommen erhalten bleiben. In den nur mäßig erhitzten Haufen von Pflanzen-



stoffen und Dünger haben wir mit gutem Rechte natürliche Standorte mancher tierpathogenen Bakterienarten zu erblicken, weshalb es Sache der Hygieniker sein wird, diesen mutmaßlichen Infektionsquellen

ein besonderes Augenmerk zuzuwenden. Auf die Möglichkeit der Erhaltung der pathogenen Bakterien in selbsterwärmten Massen vegetabilischer Substanz hat übrigens schon mit größtem Nachdruck Miehe vor längerer Zeit hingewiesen.

Häufig wurde auch eine **Selbstentzündung** von aufgestapelten organischen Massen beobachtet, wie Heuhaufen, Getreide, Mehl, Kleie, Tabak, Kaffee, Gewürze usw. Diese Selbstentzündung kann nun bei verschiedenen Temperaturen eintreten. Jedenfalls geht die hohe, zur Entzündung notwendige Temperatur nicht auf bakterielle Tätigkeit zurück. Neben rein chemischen Umsetzungen spielen die thermogenen und thermophilen Bakterien insofern eine wichtige Rolle, als durch sie Zersetzungen hervorgebracht werden, die einerseits leicht entzündliche, flüchtige Stoffe liefern, wie Sumpfgas usw. und andererseits in vielen Fällen das organische Material in pyrophore Körper verwandeln. Solche pyrophore Massen entzünden sich schon bei gewöhnlicher Temperatur leicht, wenn die Luft Zutritt bekommt.

Die Selbstentzündung der Steinkohle und auch der öligen Baumwolleabfälle, wie ölgetränkte Lappen u. dgl. ist jedenfalls auch nicht auf Mikroorganismentätigkeit zurückzuführen. Auch hier sind dafür chemische Prozesse verantwortlich.

Zur Vermeidung solcher Selbstentzündungen empfiehlt sich die trockene, sehr feste Packung der genannten Stoffe, da eine Entzündung nur bei Luftzutritt erfolgen kann. Jedenfalls ist gerade durch gutes Trocknen des Heues vor dem Lagern in großen Haufen die Entwicklungsmöglichkeit einer thermogenen Bakterienflora hintangehalten, wodurch am sichersten der Entstehung von leicht oxydablen Substanzen und mithin auch der Selbstentzündung vorgebeugt wird.

Eine unmittelbare Anwendung der Selbsterwärmung macht man bei der Herstellung des **Braunheues**. Bei der Bereitung desselben läßt man die geschnittenen Futterpflanzen abwelken, so daß ihr Wassergehalt auf 45—50 Proz. sinkt. Dann schichtet man dieselben in größeren oder auch in kleineren Haufen (Feimen) zusammen, deren unterer Durchmesser etwa 3—5 m und deren Höhe etwa 4- 5 m aufweist. Es wird dabei das welke Gras sehr fest und hohlraumfrei zusammengepreßt, damit eine Verschimmlung möglichst vermieden und eine Durchlüftung völlig ausgeschlossen wird. Jetzt beginnt sofort eine nennenswerte Erwärmung im Inneren des Haufens, wobei neben den in der Pflanze noch erhaltenen Enzymen besonders die zuvor genannten Bakterien und Pilze tätig sind. Im allgemeinen steigt die Temperatur nicht über 70—80°, welche Höhe bald erreicht ist, und fällt dann langsam ab, wie wir es aus den Kurven auf S. 238 nach den Untersuchungen Miehes bereits kennen gelernt haben. Gutes Braunheu besitzt nur eine hell- bis dunkelbraune Farbe und einen angenehmen, an frisch gebackenes Brot erinnernden Geruch. Obwohl durch die Erhitzung die Verdaulichkeit der Proteine herabgesetzt ist und auch eine tiefergehende Zersetzung der stickstoffreien

Extraktivstoffe, besonders der Pentosane, Zucker usw., also der Kohlehydrate stattgefunden hat, wird das Braunheu von den Tieren gerne genossen und sehr gut vertragen. Kommt es zu sehr hohen Erwärmungen über 80°, dann bekommt das Heu eine schwarze Farbe und ist in diesem Falle gewiß wegen der fast vollständigen Unverdaulichkeit der Eiweißstoffe als minderwertig zu bezeichnen. Außerdem besteht dabei die Gefahr der Selbstentzündung.

Bei der Bereitung des **Brennheues** wird ebenfalls eine Selbsterhitzung des frisch gemähten Grases absichtlich dadurch herbeigeführt, daß man dasselbe äußerlich trocken in großen Haufen zusammenpreßt und dann solange in diesem Zustande beläßt, bis im Innern eine Temperatur von etwa 60—70° herrscht. Dabei zeigen die Pflanzen eine braune Verfärbung und dem Heuhaufen entströmt ein weinartiger Geruch. Hier ist die rasch auftretende Erhitzung nur zum geringeren Teile der Mikrobenflora zuzuschreiben, sondern in erster Linie der intramolekularen Atmung der überlebenden Pflanzenteile. Schon nach 1—2 Tagen ist meist die erforderliche Erwärmung erreicht, worauf man die Haufen sofort auseinander wirft und das Heu zum Trocknen breitet. Die heißen und dampfenden Heumassen trocknen infolge der Erhitzung sehr schnell und können so rasch eingeerntet werden. Es ist aber auch hier infolge der Erhitzung eine geringe Abnahme der Verdaulichkeit der Proteinstoffe zu verzeichnen. Die Brennheubereitung führt nur dann zu einem guten Produkt, wenn sie in eine regenfreie Zeit fällt, in der ein Breiten des Heues nach dem Erhitzen sofort möglich ist. Bei Regen findet, wenn überhaupt zum Ausbreiten der Haufen geschritten wird, eine ausgiebige Auslaugung des Heues statt, die es sehr entwertet.

Auch beim gewöhnlichen Hergang der Dürrheubereitung findet ebenfalls eine Art Fermentation statt, die aber kaum auf Mikroorganismen zurückgeht, sondern vielmehr auf die überlebenden Enzyme der Pflanze selbst, die nach geringem Welken noch tätig sind. Nur dann, wenn das gemähte Gras sehr schnell im Sommer vollkommen eintrocknet, ohne dazwischen für einige Zeit gehäufelt zu werden, fehlen diese enzymatischen Vorgänge. Das Heu ist aber dann arm an Geschmacks- und Geruchsstoffen und wird von den Tieren nicht gerne genommen.

Auch bei der **Tabakfermentation** und bei dem „Schwitzenlassen“ der Tabakblätter tritt eine Erwärmung ein, die aber in letzterem Falle nicht auf Mikroorganismen zurückgeht, sondern auf die überlebenden Blattzellen selbst. Bekanntlich werden die geernteten Tabakblätter oder auch die oberhalb der Wurzel abgeschittenen ganzen Pflanzen, an Schnüren aufgehängt, in einer Scheune getrocknet. Man bezeichnet diesen Trocknungsprozeß als „Trocknen auf dem Dache“. Vor dem Trocknen schaltet man aber auch häufig das „Schwitzenlassen“ ein, wobei die Blätter zu kleineren Haufen zusammengeschichtet werden. Die in den welkenden Blättern noch tätigen Enzyme verändern nun den Tabak in der Weise, daß er eine braune Farbe bekommt und daß Umsetzungen an der Stärke der Blätter unter Kohlendioxydabgabe vor sich gehen und die Eiweißstoffe teilweise in Amide abgebaut werden. Die Braunfärbung selbst geht auch beim Trocknen auf dem Dache auf Gykosidspaltungen zurück, die durch Enzyme der Tabakzellen unterhalten werden. In diesem Stadium der Tabakherstellung, in dem auch eine Erwärmung auftritt, spielen Mikro-

organismen höchstens als Schädlinge eine Rolle, indem durch ihre Tätigkeit die sog. Rippenfäule und auch der Dachbrand hervorgebracht wird. Bei der Rippenfäule kommt es infolge von Pilzwucherungen zu einer fauligen Zersetzung besonders schwer trocknender, dicker Tabakblattrippen. Der Dachbrand ist durch das Auftreten von verbrannt aussehenden Flecken auf den Blättern gekennzeichnet. Auch kann es zum „Verbrühen" der Blätter kommen, wenn beim Schwitzen die Temperatur zu hoch steigt. Die Blätter sind dann schwarz. Wir sehen hier also auch Erscheinungen, die mit jenen bei der Braun- und Brennheubereitung große Ähnlichkeit besitzen.

Jetzt erst leitet man die eigentliche Fermentation des Tabakes ein, mit deren Abschluß die Umsetzungen im Tabakblatt ihr Ende erreichen. Man bindet zu dem Behufe die Tabakblätter in Bündel, die nun zu größeren oder kleineren Stöcken geschichtet werden. Je nach dem Wassergehalt der Blätter und der Größe der Stöcke steigt die Temperatur in denselben langsamer oder rascher. Sobald sie etwa 50° C erreicht hat, setzt man die Stöcke um, wobei man die Lagerung so vornimmt, daß die inneren Bündel nun außen zu liegen kommen. Bei der Fermentation erleidet der Tabak nun eine Gewichtsabnahme, die etwa 4—5 Proz. beträgt und sich in erster Linie auf das abgegebene Wasser und auch auf die Trockensubstanz bezieht. Es verschwinden die löslichen Kohlehydrate, während die noch vorhandene Stärke unzersetzt bleibt. Dabei entsteht reichlich Kohlendioxyd. Auch die Salze organischer Säuren werden angegriffen, besonders diejenigen der Zitronen- und Apfelsäure. Die Eiweißstoffe erleiden eine nur geringfügige, nicht nennenswerte Veränderung, während das Asparagin allerdings umgewandelt wird. Der Gesamtstickstoffgehalt wird also nicht verändert. Vom Nikotin wird allerdings ein Teil aufgezehrt, denn es dient den vorhandenen Mikroorganismen als Stickstoffquelle.

Bei den spontanen Fermentationen des Tabakes finden sich auf den Blättern immer massenhaft oder zumindest sehr zahlreich Bakterien und auch Pilze, die gewiß auch bei schon verhältnismäßig trockenen Blättern sich noch gut entwickeln. So konstatierte Behrens, daß auch bei einem Wassergehalt von 25 Proz. im Tabak noch eine rege Mikroorganismenentwicklung vor sich geht. Daß die Mikrobenflora für die Verbesserung des Produktes eine einschneidende Bedeutung besitzt, kann ebenfalls als sichergestellt gelten, wenn auch eine Fermentation ohne jegliches Zutun von Mikroorganismen möglich ist. Über die beim Fermentierungsprozeß sich einstellende Mikrobenflora liegen schon zahlreiche Untersuchungen vor, aus denen hervorgeht, daß unter Anwendung bestimmter Bakteriengemische eine Verbesserung des Tabakes möglich ist und selbst damit behandelte, mindere Pflanzensorten einen erheblich besseren Tabak ergeben. Das auf Kuba übliche Petunieren ist auch nichts anderes, als eine Beimpfung der Tabakstöcke mit einer besonderen Bakterienmischung, wobei man aber nicht von Reinkulturen ausgeht. Man stellt die Petunierungsbrühe in der Weise her, daß man beschädigte Blätter oder zerkleinerte Stengel besonders edler Tabaksorten in Wasser faulen läßt und mit dieser Faulflüssigkeit die Tabakbüschel vor dem Zusammensetzen der Stöcke besprengt, wodurch eine nennenswerte Verbesserung des Produktes erzielt wird.

Die Schnupftabake werden noch besonders fermentiert. Beim Râpé wird der Tabak fein zerschnitten oder gepulvert der Fermentation unterworfen, bei der anfangs, solange die Fermentationstemperatur 40° nicht erreicht, Mikroorganismen tätig sind. Die bei den Temperaturen zwischen 40 und 50° auftretenden Umsetzungen scheinen aber rein chemischer Natur zu sein.

Bei der Fermentation des Schnupftabakes in Form von Karotten dürfte eine alkoholische Gärung sich abspielen, weshalb häufig Hefe zugesetzt wird. Die Karotten sind Bündel von saucierten nassen Tabakblättern, die in Leinen eingebunden sind.

Im allgemeinen ist man über die Mikrobentätigkeit bei der Tabakfermentation noch keineswegs im Klaren und es bedarf noch eingehender Untersuchungen, um die vielen Fragen in dieser Hinsicht zu lösen.

Auch bei dem **Grünpreß-** oder **Silagefutter** und dem **Sauerfutter** treten spontane Erwärmungen während der Bereitung auf. Es handelt sich hier in beiden Fällen meist um frische, nicht getrocknete Futtermittel, die durch Einsäuern konserviert werden. Eine strenge Scheidung in Silage- und Sauerfutter ist kaum möglich. Im allgemeinen nähert sich das Grünpreßfutter mehr dem Braunheu, nur ist es wasserreicher und enthält mehr Säure. Noch weiter in den Vordergrund tritt die Säurebildung und der Wasserreichtum beim Sauerfutter. Von Grünfutterpflanzen werden hauptsächlich Kleearten, Wiesengräser, Mais, Hirse und Rübenblätter u. dgl. durch Einsäuern konserviert. Zur Sauerfutterbereitung finden auch Rübenschnitzel, Kartoffel (frisch und gefroren), Möhren, Kohlrüben und Abfälle aus der Stärke- und Konservenfabrikation Verwendung.

Das Einsäuern geschieht nun in größeren Erdgruben und betonierten Behältern oder in besonderen Bauten, den Silos, oder endlich in freistehenden Haufen und Feimen. Die Materialien kommen zerkleinert oder unzerkleinert in die Behälter oder Feimen, werden fest zusammengepreßt, und mit Stroh oder Häcksel bedeckt und schließlich mit Steinen beschwert. Oft bringt man auch besondere Preßvorrichtungen an, die einen Druck von 8—10 Meterzentnern auf den Quadratmeter ergeben.

Wir wollen uns ganz kurz zuerst mit dem **Grünpreßfutter** befassen. Für dasselbe finden in erster Linie Mais und die späten Ernten von Wiesengras, Wicken u. dgl. Verwendung. Gewöhnlich wird dieses Futter in freistehenden Feimen hergestellt, die würfelige Gestalt besitzen oder Häuschenform mit einem Satteldach. Mit oben aufgelegten, hervorstehenden und entsprechend beschwerten Balken führt man die Pressung durch. In diesen Haufen tritt nun eine 70° nicht überschreitende Erwärmung in kurzer Zeit auf. Infolge der starken Pressung und dem Mangel der Durchlüftung im Innern erwärmen sich die äußeren Teile meist etwas stärker und die Umsetzungen sind hier auch etwas andere als im Innern. Man erhält dementsprechend auch niemals ein durchaus gleichartiges Produkt. Auch die Beschaffenheit des Ausgangsmateriales in bezug auf seinen Wassergehalt und seine Steifheit oder Schmiegsamkeit ist von großer Bedeutung. Im allgemeinen ist die Erwärmung geringer, wenn die Packung fester und der Druck größer ist. Die Mikroorganismenflora ist ebenfalls außen anders als innen. Außen herrschen die Schimmelpilze vor, während im Innern hauptsächlich Bakterien wirksam

sind. Die eintretenden Umsetzungen betreffen sowohl die Eiweißkörper als auch die Kohlehydrate. Dabei soll im allgemeinen die Temperatur in der Weise mitspielen, daß bei geringer Erwärmung die Eiweißkörper weniger angegriffen und verdaulicher bleiben und auch die Menge der entstehenden flüchtigen Säuren und Amide gering ist. Sowohl die Menge der Säuren als auch ihre Art ist ebenfalls großen Schwankungen unterworfen. Im Preßfutter finden sich vornehmlich Milchsäure, dann Butter-, Essig- und Valeriansäure, dann in verhältnismäßig großen Mengen (bis 0.3 Proz.) Äthylalkohol und in geringer Menge auch andere Alkohole.

Für das Zustandekommen der gesamten Umsetzungen und der Erwärmung im Grünpreßfutter sind neben den in der Pflanze selbst vorhandenen Enzymen eine Reihe von Pilzen und Bakterien von Bedeutung. Man hat eine Reihe von Milchsäure-, Essigsäure- und Buttersäurebakterien daraus bereits isoliert. Immerhin kann aber auch hier von einer spezifischen Flora der Grünpreßfutterbereitung nicht gesprochen werden, da schon die in den einzelnen Fällen verschieden hohen Erwärmungen einen Wechsel derselben zur Folge haben müssen. Die Abfolge der Mikroorganismen infolge der steigenden Temperatur kann man vielleicht mit einer gewissen Berechtigung so annehmen, daß bei etwa 32° C die Tätigkeit der Essigsäure bildenden Bakterien in den Vordergrund tritt, von da ab bis ca. 49° Milchsäurebildner das Feld beherrschen, während bei den Temperaturen über 50° der Valeriansäure erzeugende Bacillus valericus und bei 60° der Bacillus thermicus, eine Obstester produzierende Art, tätig ist. Bei der späteren Wiederabkühlung sollen nur noch in erster Linie Milchsäurebildner anzutreffen sein.

Die Vorgänge bei der Bereitung des **Sauerfutters** sind insofern von denjenigen bei der Grünpreßfutterherstellung verschieden, als man durch eine sehr feste, gleichmäßige Einlagerung und Herstellung eines möglichsten Luftabschlusses keine sehr starke Erwärmung aufkommen läßt. Deshalb steigen in den Sauerfuttergruben die Temperaturen kaum über 40°, ja erreichen dieselbe nur in den seltensten Fällen. Das fertige Sauerfutter soll eine graugrüne bis grüne Farbe aufweisen, nicht breiig sein und die Form der einzelnen Bestandteile noch gut erkennen lassen. Ihm entströmt meist ein Geruch nach Butter- und Essigsäure. Beim Sauerfutter findet man größere Mengen von Säuren als im Grünpreßfutter. Die Qualität derselben ist aber auch verschieden und in erster Linie abhängig von dem Ausgangsmateriale. Im allgemeinen herrscht die Milchsäure vor. Nur in dem aus Rübenschnitzeln hergestellten Sauerfutter soll die Essigsäure überwiegen. Daneben findet man immer noch eine Reihe anderer flüchtiger Säuren, deren Menge ebenfalls schwankt. Jedenfalls sollen aber erheblichere Mengen von Buttersäure nicht vorhanden sein. Wie im Preßfutter sind auch im Sauerfutter Alkohole nachweisbar.

Sowohl das Preßfutter als auch das Sauerfutter erfordert eine Fermentationsdauer von etwa 4—6 Wochen, obwohl die Umsetzungen viel länger dauern und erst nach 4—5 Monaten vollends ablaufen und zum Stillstand kommen.

Kaffee und Kakao werden bei ihrer Gewinnung in vielen Fällen ebenfalls einer besonderen Fermentation unterworfen, die hier aber nicht

zur einer Verbesserung des Produktes führt, sondern nur die Entfernung der Fruchtschale oder Teile derselben erleichtern soll.

Dies gilt ganz besonders für die **Kaffeefermentation**. Zur Gewinnung der Kaffeebohne des Handels benutzt man im allgemeinen zwei Methoden.

Bei der einen werden die geernteten Kaffeefrüchte zuerst in der Sonne unter häufigem Wenden, in dünner Schicht ausgebreitet getrocknet und dann in einer Schälmaschine vom Fruchtfleisch und dem Pergamenthäutchen befreit. Die Trocknung wird auch häufig in besonderen Räumen bei Temperaturen von 50—60° durchgeführt. Vielfach schaltet man vor dem eigentlichen Trocknen noch eine Selbsterhitzung ein, die man dadurch erreicht, daß man die frisch geernteten Kaffeefrüchte in Haufen zusammenbringt und so 3—4 Tage liegen läßt. Alsbald setzt infolge der überlebenden Enzyme und auch der intramolekularen Atmung die Selbsterwärmung ein. Diese dient aber nur zur Förderung der Trocknung, weshalb man dann die erhitzten Früchte in dünner Lage ausbreitet und so rasch im warmen Zustande entwässert. Die weiteren Prozeduren bleiben die gleichen.

Besonders in Westindien benutzt man eine zweite Methode der Kaffeebohnengewinnung, bei der durch einen mikrobiellen Zersetzungsprozeß die Fruchtfleischreste von dem Samen entfernt werden. Hier spricht man von einer Kaffeefermentation und bezeichnet das Verfahren deshalb auch als nasses. Die Früchte kommen unmittelbar nach der Ernte in den Despolpador oder Pulper, in dem die Samen aus dem Fruchtfleische herausgedrückt werden. Von dort gelangen dieselben samt den noch anhaftenden Fruchtfleischresten in die sog. Gärzisterne, in der sie 10—60 Stunden verbleiben. Aus der Gärzisterne bringt man die Bohnen in die Waschzisterne, wo das angegriffene und erweichte Fruchtfleisch vollends entfernt wird, bis dieselben nicht mehr schleimig erscheinen. Nachdem von den auf einem Drahtnetz aufgeschichteten Samen das überschüssige Wasser abgetropft ist, kommen sie zum Trocknen in dünner Lage auf betonierte oder gepflasterte Plätze oder werden im Freien in der Sonne getrocknet. Dann werden sie erst geschält und weiter behandelt.

Bei der Kaffeefermentation tritt zuerst eine kräftige alkoholische Gärung auf, die durch Hefen unterhalten wird. Bei längerer Gärdauer setzt dann die Essiggärung ein. Allerdings soll zu starke Säurebildung die Güte des Produktes ungünstig beeinflussen. Beide genannten Umsetzungen scheinen aber nicht das Wesentliche der Kaffeefermentation zu sein, sondern, wie schon angedeutet, die Lockerung und Erweichung des Fruchtfleischrestes, damit es zu einer leichten Entfernung des die Testa des Samens umgebenden Schleimgewebes kommen kann. In dieser Hinsicht wurde aber die Kaffeefermentation noch keineswegs genügend untersucht.

Der Kaffeefermentation sehr ähnlich ist die **Kakaofermentation**. Nachdem die geernteten Früchte einer 3—4tägigen Nachreifung unterworfen worden sind, entnimmt man mit der Hand die Samen, streift das Fruchtmus ab und trocknet dieselben in der Sonne oder rottet sie. Die Rotte oder Fermentation hat auch hier nur den Zweck, möglichst rasch das Schleimgewebe um die Testa des Samens zu zerstören und so die Trocknung zu beschleunigen. Eine besonders günstige Beeinflussung des Aromas scheint dadurch wohl kaum zustande zu kommen, obwohl eine solche viel-

fach angegeben wird. Diese Rotte wird nun in ausbetonierten Gruben oder hölzernen Behältern vorgenommen, in die die Samen eingebracht und mit Tüchern oder Bananenblättern bedeckt werden. Darin verbleiben sie gewöhnlich 2—5 Tage. Im allgemeinen betrachtet man die Fermentation für beendet, wenn die Bruchfläche der Bohnen eine rotbraune Farbe aufweist.

Bei der Rotte sind zahlreiche Mikroorganismen, Hefen und Bakterien beteiligt, von denen besonders Saccharomyces Theobromae, Essigbakterien und auch Milchsäurebakterien erwähnt seien. Dementsprechend sehen wir auch hier wie bei der Kaffeefermentation zuerst eine alkoholische Gärung auftreten, die dann einer Essigsäuregärung und vielleicht auch in vielen Fällen einer Milchsäuregärung das Feld räumt. Dies sind wohl die augenfälligsten Erscheinungen, obwohl wahrscheinlich auch hier die zur Lösung des Schleimgewebes beitragenden Umsetzungen die wichtigsten sind. Auf diese achtete man aber bisher wenig. Die an den Kakaobohnen selbst sich abspielenden Veränderungen sind auf Enzyme derselben zurückzuführen, die in den Samen auch nach Abtötung derselben bei der Rotte noch eine ausgiebige Tätigkeit entfalten. Dies geht schon daraus hervor, daß man dieselben Umsetzungen in der Bohne auch dann erhält, wenn man die Gärung ausschaltet und die Samen selbst ohne Schädigung der Enzyme durch Alkohol oder Erfrieren u. dgl. zum Absterben bringt. Vor allem sind es Oxydasen und Peroxydasen, durch die eine Oxydation der Gerbstoffe und damit eine Entfernung des bitteren Geschmackes herbeigeführt wird. Die Verfärbung der ursprünglich weißen Bohne soll ebenfalls auf ein Enzym zurückgehen, das das Glykosid Cacaonin in Kakaorot, Zucker, Koffein und Theobromin spaltet.

Bei der Kokaorotte kommt es mitunter auch zu anderen Gärungen, die aber zu minderwertigen oder unbrauchbaren Produkten führen. Vor allem gefürchtet ist die Buttersäuregärung, da durch sie den Bohnen ein ranziger und kratzender Geschmack verliehen wird, wodurch sie wertlos werden.

Häufig hört man auch von einer **Vanille- und Teefermentation** sprechen, die aber mit Hefen- und Bakterientätigkeiten nichts zu tun haben. Hier spielen nur die überlebenden Enzyme der Blätter eine Rolle, weshalb wir darauf nicht näher einzugehen brauchen.

Bakterien und Pilze spielen nun auch bei der **Gerberei** eine sehr wichtige Rolle, obwohl hier auch noch nicht mit Reinkulturen gearbeitet wird. Überhaupt sind die Einzelheiten der Bakterientätigkeit dabei und auch die Mikrobenflora selbst noch wenig eingehend untersucht. Trotzdem weiß man heute, daß gewisse Mikroben die verschiedenen Prozesse in der Gerberei günstig beeinflussen, andere dagegen als Schädlinge auftreten.

Ohne auf die Technologie der Lederherstellung näher einzugehen, wollen wir nur kurz betrachten, mittelst welcher Methoden man aus der tierischen Haut das Leder bereitet. Sobald dem Tiere die Haut abgezogen ist, muß sie entweder sofort den verschiedenen Gerbereiprozessen unterworfen oder durch rasche Trocknung oder durch Einsalzen der Tätigkeit der Fäulnisorganismen entzogen werden, da sie sonst sehr rasch durch sie vollkommen zerstört wird. Gewöhnlich werden die Häute in trockenem

Zustande an die Lederfabriken geliefert. Vor der weiteren Verarbeitung werden die Häute wieder aufgeweicht, was in der sog. Weiche geschieht. Zur Entfernung der Haare kommen die erweichten Häute entweder in den Schwitzkasten, einen mit Feuchtigkeit gesättigten, mäßig erwärmten Raum, oder in den Äscher, wo die Enthaarung mit Kalk und Schwefelmetallen vorgenommen wird. Hierauf werden sie gewaschen und dann zur Auflockerung und Wegschaffung der Kalkniederschläge gebeizt. Die enthaarten Häute bezeichnet man gerbereitechnisch als Blößen. Nach der Beize werden die geschwellten Blößen erst eigentlich gegerbt. Dafür kommen je nach der Lederart drei Verfahren in Betracht: die Alaun- oder Weißgerberei, die Öl- oder Sämischgerberei und endlich die Lohgerberei. Bei letzterer spielen Mikroorganismen eine hervorragende Rolle, weshalb nur sie näher besprochen werden soll.

Schon in der **Weiche**, in die die trockenen Häute vor der Weiterbehandlung eingelegt werden, können Fäulnisbakterien eine unliebsame Rolle spielen und die Häute verderben, was besonders leicht bei Anwendung von alten Weichen und höheren Temperaturen eintritt. In der Weiche verliert die Haut hauptsächlich plasmatische Substanz. Um ein Verderben der Häute möglichst hintanzuhalten, benutzt man häufig die angeschärften Weichen. Man versteht darunter Weichbrühen, welche einen Gehalt von 1—2 Proz. Ätznatron oder Schwefelnatrium enthalten, wodurch die Bakterienflora und damit auch ihre Tätigkeit auf ein Minimum herabgedrückt wird.

Wie schon angedeutet, wird die erweichte Haut nunmehr enthaart, was durch **Abschwitzen** oder **Äschern** geschieht. Das Leder liefern nicht alle Schichten der Haut, sondern nur jene tiefliegenden Partien, die man als Lederhaut oder Corium bezeichnet, während die äußerste Schichte, die Epidermis, samt der unmittelbar darunterliegenden Schleimhaut mit den Haaren entfernt wird. Die Freimachung und Bloßlegung der Lederhaut und die damit verbundene Enthaarung wird entweder durch das Schwitzen oder das Äschern vollzogen. Nur bei ersterem sind Bakterien in großem Umfange beteiligt. An den im Schwitzkasten untergebrachten, erweichten Häuten spielt sich in kurzer Zeit ein intensiver Fäulnisprozeß ab, von dem besonders die Epidermis und die Schleimhaut ergriffen werden, so daß die Haare leicht mechanisch entfernt und die genannten unbrauchbaren Hautschichten abgeschabt werden können. An dem Fäulnisprozeß sind besonders Proteusarten beteiligt, wie Proteus vulgaris und mirabilis, obgleich auch viele andere Bakterienarten sich noch dabei einstellen. Geschieht das Schwitzen bei höherer Temperatur, bei welcher die Fäulnisvorgänge besonders energisch verlaufen, so kann leicht eine zu tiefgehende Zersetzung platzgreifen, die zu einer Zerstörung der Lederhaut führt, was gewissenhaft zu vermeiden ist. Um dieser Gefahr auszuweichen oder sie mindestens herabzusetzen, verwendet man vielfach die „kalte Schwitze". Dieselbe geschieht in Schwitzkasten oder Räumen, in denen fortwährend kaltes Wasser verstäubt wird, so daß die Temperatur ständig unter 12° bleibt.

In frisch angesetzten Äschern ist die mikrobielle Tätigkeit bedeutungslos, während sie in länger in Gebrauch stehenden Äschern wesentlich an der Lösung des Plasmas beteiligt ist. In der frischen Brühe handelt es sich um mit den Häuten eingebrachte, Gelatine nicht verflüssigende Bakterienarten.

Die enthaarten, abgeschabten Häute, nunmehr Blößen genannt, werden nun **gewaschen**, was besonders für die in Äschern enthaarten Blößen wichtig ist, weil dabei ein großer Teil des darin niedergeschlagenen Kalkes entfernt wird. Beim Waschprozeß setzt besonders dann eine nennenswerte bakterielle Tätigkeit ein, wenn die Blößen stundenlang ruhig im Wasser liegen, da sich dann mitunter sehr kräftig hautzersetzende Mikroorganismen an denselben ansiedeln. Maßgebend dafür ist natürlich auch die Mikrobenflora des Waschwassers, der bei der modernen Gerberei ein besonderes Augenmerk zuzuwenden sein wird. So findet man bestimmte Bakterienarten, die die Haut in ihrer Gänze angreifen und zerstören, wie beispielsweise der Bacillus dendriticus oder der sogenannte „weiße Bazillus Maschek". Dann treten auch Bakterien in den Vordergrund, die die Blöße stellenweise tief zersetzen und so zu Lochbildungen Veranlassung geben, wie der Bacillus lactis albus und zahlreiche Kugelbakterien. Dementsprechend wäscht man jetzt in Wasser, das eine Säure zugesetzt enthält, die mit dem in den Blößen vorhandenen Kalk leicht lösliche Salze bildet und hält dabei die Blößen in ständiger Bewegung.

Wie schon kurz angedeutet, werden die reingemachten Blößen nunmehr gebeizt. Die **Beize** hat den Zweck, einerseits die Lederhaut zu lockern und andererseits die noch vom Äschern her übriggebliebenen Kalkverbindungen zu entfernen. Die Lockerung der Hautfasern geht auf eine Zerstörung und Weglösung jener Plasmasubstanzen zurück, welche die Hautfasern in Fibrillenbündeln und in Fibrillen zusammenhalten. Demgemäß wird die Beizung dem gewünschten Zweck, den das fertige Leder haben soll, angepaßt. Je weiter die Lösung in einzelne Fasern erfolgt, desto weicher und geschmeidiger wird das Leder werden. Als Beize verwendet man nun Aufschwemmungen von Hundekot, Hühnermist und Taubenfäzes und spricht dann von Mistbeizen. In denselben wirken hauptsächlich Bacillus prodigiosus, Bacillus megatherium, Bacillus subtilis, Bacillus aerogenes und Bacillus gasoformans. Durch diese Bakterien wird eine kräftige Gärung unter Säuerung in den Beizen herbeigeführt. Wegen des großen Gestankes und der Gefährlichkeit dieser Kotbeizen für die Gesundheit der Arbeiter hat man Versuche gemacht, dieselben durch ungefährliche Surrogate zu ersetzen, was auch Erfolg hatte. Besonders bewährt soll sich das Erodin haben. Es soll durch Zersetzung von Knochen- und Fleischmehl mit dem Bacterium erodiens hergestellt werden. Nach einer anderen Angabe ist das Erodin mit Hundekotbakterien durch einfaches Verimpfen desselben zersetztes Fleischmehl, wodurch allerdings noch immer viel anderes, nicht Hineingehöriges mitkommt und kein wesentlicher Unterschied zwischen der unmittelbaren Kotbeize besteht.

Wo es sich um besonders zügige Ledersorten handelt, wie beim Handschuhleder, bewerkstelligt man die entsprechende Isolierung und Lockerung der Hautfibrillen in der Kleienbeize, in der sich alsbald eine energische Gärung etabliert, die infolge der dabei auftretenden Gasbildung mechanisch die Auflockerung herbeiführt. Die Beize stellt man durch Übergießen von gewaschener Kleie mit mäßig warmem Wasser her. Da hinein kommen die Blößen. Die Gärung und Gasbildung verursacht in dieser Beize der Bacillus furfuris, der übrigens mit dem früher genannten Bacillus gasoformans identisch zu sein scheint. Natürlich

finden sich daneben noch eine Reihe anderer Mikroorganismen. An Gasen werden in der Kleienbeize Wasserstoff, Methan und Kohlendioxyd gebildet. An Stelle der sonst konstant auftretenden Milchsäuregärung kommt es mitunter zur Buttersäure- oder Essigsäuregärung, was aber zu Fehlbeizen führt. Normalerweise schwellen in der Beize die Blößen auf etwa die doppelte Dicke an.

In vielen Fällen wendet man auch kombinierte Beizen an, indem man Ansätze von Kleie u. dgl. mit Mist herstellt. In diesen kombinierten Beizen soll der Bazillus subtilis besonders günstig wirken. Aus diesem Grunde benützt man auch Beizen, die unmittelbar mit Reinkulturen dieser Bakterienart aus Leim und Kleie usw. angesetzt werden.

Sehr oft stellen sich bei diesen Beizen, sofern nicht von Reinzuchten passender Mikroorganismen ausgegangen wird, Fehler ein, die zu minderwertigen Produkten führen. Kommt es zu einem Faulen der Kleienbeize, so zeigen die Blößen eine bläuliche Verfärbung und werden löcherig und rissig. Mitunter überzieht sich die Blöße in der Kleienbeize mit einem schleimigen, schmierigen, weißlichgrauen Belag, der aus Zoogloëen des Bacillus megaterium besteht. Dort verliert die Ledernarbe ihren Glanz und bleibt auch nach der eigentlichen Gerbung blind. Hier ist auch das sog. Glasigbeizen zu nennen, bei dem die Blößen glasig aufschwellen. Diese Erscheinung tritt bei starker Essiggärung der Kleienbeize auf.

Die geschwellten und gebeizten Blößen werden nun mit Gerbstoffen behandelt, **gegerbt**. Wenn es sich um feste Ledersorten, wie Sohlenleder usw., handelt, dann gerbt man vielfach in der Lohgrube. Darin ist jede Blöße ungefähr 3—4 cm dick jederseits mit frischer, grobzerkleinerter Lohe, die auch mit Knoppenmehl gemischt ist, bedeckt. Nachdem die ganze Grube in dieser Weise mit Blößen und Lohe gefüllt ist, läßt man bis zur vollständigen Bedeckung Wasser zufließen. Nach etwa 8—10 Wochen werden die Blößen umgebettet und neuerlich mit Lohe in der angegebenen Weise behandelt. Diese Umlagerung wird so oft wiederholt, bis die Blöße ausgegerbt oder das Leder „lohgar“ geworden ist. Meist genügt ein 3—5 maliges Umbetten. Über die in der Lohgrube herrschenden, mikrobiellen Umsetzungen wissen wir noch nichts Genaueres.

Die Gerbung der feineren, dünneren Ledersorten geschieht meist in einem wässerigen Auszug der Gerbmaterialien, den man Lohbrühe nennt. Auch hier findet ein Eintritt der Gerbstoffe in die Blöße statt. Außerdem stellen sich aber noch zahlreiche Umsetzungen und Gärungen in der Brühe ein, die einen Einfluß auf den Gang der Gerbung und damit auch auf das endgültige Produkt ausüben. Dies gilt ganz besonders von der Säurebildung, die in diesem Falle auf eine reine Mikroorganismentätigkeit zurückgeht. Dieselben sind teilweise von vornherein auf den Gerbmaterialien, teilweise gelangen sie mit dem Wasser und aus der Luft in die Brühe, und endlich werden sie je nach der Vorbehandlung der Blößen mit diesen mehr oder minder zahlreich eingebracht. Die Gesamtflora der Lohbrühe setzt sich dementsprechend vornehmlich aus Fäulnisbakterien und Gärungsorganismen zusammen.

In den normal arbeitenden Lohbrühen findet man an Gärprodukten in erster Linie Alkohol in einer Menge von höchstens 2 Proz. Größere

Quantitäten sind sehr selten und als Ausnahmebefunde zu betrachten. Hefen, wie Saccharomyces Pastorianus, Saccharomyces ellipsoideus, Hansenia apiculata und Torulazeen bewirken hier die alkoholische Gärung. Entsprechend letzterer findet auch eine ausgiebige Kohlensäurebildung statt. Daß es nicht zu sehr großen Alkoholmengen kommt, hat den Grund in dem Einsetzen einer nicht unbeträchtlichen Essigsäuregärung, durch die der gebildete Alkohol zum größten Teile verschwindet. Die entstandene Essigsäure wird häufig von Mykodermaarten weiterverbrannt. Diese unerwünschte Oxydation unterdrückt man durch das „Treiben" der Lohbrühen, das in einem häufigen Umrühren derselben besteht.

Nach dem Ablauf der Alkohol- und Essigsäuregärung setzt eine Milchsäuregärung in der Brühe ein. Dieselbe scheint von mehreren Erregern durchgeführt zu werden, von denen in den einzelnen Stadien die einen oder anderen vorherrschen. Neben den uns schon bekannten Milchsäurebakterien sollen übrigens in den Brühen noch für dieselben spezifische Milchsäureereger vorkommen, und noch eine milchsäurebildende Hefe, Saccharomyces acidi lactici Grotenfelt.

In sehr alten, jahrelang in Gebrauch befindlichen Brühen findet man meist, wenn auch in geringer Menge, Buttersäure. Es dürfte sich hier wohl um eine Buttersäuregärung des milchsauren Kalkes handeln, der sich in viel benutzten Brühen stets in erheblicher Menge findet.

Die in der Brühe vorhandenen Gerbstoffe können die Mikroorganismentätigkeit in derselben in den Konzentrationen, wie sie in der Praxis vorkommen und höchstens 25 Proz. betragen, niemals unterdrücken. Es werden die Umsetzungen bei niedrigem Gerbstoffgehalt nur rascher verlaufen als bei höherem. An Kohlehydraten mangelt es in den Lohbrühen ebenfalls nicht, und für eine genügende Stickstoffmenge ist durch die eingebrachten Blößen gesorgt. Entsprechend der Menge der vergärbaren Kohlehydrate wird die Säurebildung ausfallen und durch Vermehrung derselben hat man eine gewisse Beeinflussung der Säuerung in der Hand. Dafür, daß es nicht zu einer Fäulnis in der Lohbrühe trotz der zahlreich anwesenden und immer frisch eingebrachten Fäulnisbakterien kommt, sorgen Hefen und Bakterien durch die Alkohol- und Säureproduktion.

Literatur zur Vorlesung XIX.

Miehe, H., Die Selbsterhitzung des Heues. Jena 1907.

Behrens, J., Thermogene Bakterien. Wärmeerzeugung durch Gärungsorganismen. Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 601.

Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. Die Tabakfermentation. S. 108.

Behrens, J., Mykologie der Tabakfabrikation. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 5, S. 1.

Kossowicz, A., Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie. Berlin 1911, S. 169.

Eitner, W., Mykologie der Gerberei. Lafar's Handb. d. techn. Mykolgie, Bd. 5, S. 21.

ZWANZIGSTE VORLESUNG.

Einsäuerung von Gemüse. Fadenziehen des Brotes. Bakterielle Senfzersetzung.

Wir haben schon eine Reihe von Prozessen zur Konservierung von Futtermitteln kennen gelernt, bei denen eine Säuerung die wesentlichste Rolle spielt. Es sei nur an das Grünpreß- und Sauerfutter erinnert. Ähnliche Erscheinungen spielen sich nun auch bei der Haltbarmachung von Gemüsen durch Einsäuern ab. Als solche Gemüsekonserven seien das Sauerkraut, Stschikraut, Komstkraut, saure Bohnen, Gurken, Erbsen, Tomaten und Äpfel genannt. Bei der Herstellung dieser Gemüsekonserven kann man im allgemeinen drei Gärungsprozesse unterscheiden, die nacheinander verlaufen. Unmittelbar nach dem Einmachen der ganzen oder zerkleinerten, rohen oder gebrühten, gesalzenen oder ungesalzenen nnd endlich mit oder ohne Wasserzusatz angestellten Gemüse setzt die Vorgärung ein, die innerhalb von wenigen Tagen abläuft. Dann findet die Hauptgärung statt, die durch eine fast reine Milchsäuregärung charakterisiert ist. Ihr allein verdankt das Produkt im wesentlichen seine relativ lange Haltbarkeit, sofern man für einen hinreichenden Luftabschluß sorgt. Durch sie erleidet die von vornherein vorhandene Mikrobenflora eine beträchtliche Einschränkung, denn die Hauptgärung überdauern nur die widerstandsfähigen Formen der Mikroben, hauptsächlich Sporen. Nach einer längeren oder kürzeren Zeit beginnt nun die Nachgärung, bei der ein Wiederaufleben zahlreicher Mikroorganismen zu verzeichnen ist, durch deren Tätigkeit eine Abnahme der Säuremengen und sogar in der Folge eine alkalische Reaktion der nunmehr schon stark angegriffenen Gemüsekonserve zu verzeichnen ist. Die hier auftretenden Zersetzungen betreffen in erster Linie die noch erhaltenen Pektin- und Zellulosekörper und Eiweißstoffe.

Eine weitverbreitete Gemüsekonserve ist das **Sauerkraut**. Es wird entweder im großen fabrikmäßig hergestellt oder auch im Hause für den eigenen Bedarf. Beim Fabrikbetrieb werden von den eingelieferten Weißkohlköpfen die äußeren grünen Blätter entfernt, ebenso die Strunkenden und etwa vorhandene schadhafte Stellen. Dann werden die Krautköpfe fein geschnitzelt und die Schnitzel mit gewöhnlichem Kochsalz eingesalzen. Das Zerschneiden und Einsalzen geschieht meist durch besondere Maschinen, während die Zurichtung der Köpfe manuell ausgeführt wird. Die mit Salz gemengten Schnitzel kommen nun in große eichene Gärbottiche von 1—2 m Höhe und 2 m Breite. Vielfach

werden auch große Betongefäße zur Gärung verwendet. Jede eingebrachte Lage von Schnitzeln wird von Arbeitern, die mit entsprechenden Holzschuhen bekleidet sind, möglichst lückenlos und luftfrei festgestampft. Sobald die fein geschnittenen und gesalzenen Krautmassen bis oben in den Bottich festgeschlichtet sind, werden sie mit einem Deckel zugedeckt und sofort mit schweren Steinen beschwert. Wenige Stunden nachher hat sich die Masse unter starker Flüssigkeitsabgabe gesetzt und der ausgetretene Saft bedeckt den Deckel. Jetzt setzen schon die ersten Gärungserscheinungen ein, die sich durch ein Aufsteigen von Gasblasen aus der ausgepreßten Flüssigkeit verraten.

Es findet also zuerst eine ausgiebige Brühebildung statt, dann eine Gärung derselben unter Schäumen, schließlich die Säuerung und die Kahmbildung auf der Brühe.

Da bei der Sauerkrautbereitung ohne Zugaben von Flüssigkeiten gearbeitet wird, stammt die gesamte Brühe aus den Zellen des Weißkohles. Das Einsalzen hat nun den Zweck, die Brühebildung, also den Austritt des Zellsaftes zu beschleunigen. Dasselbe kann auch durch Abtöten der Zellen in der Wärme um 50° C oder durch Gefrieren herbeigeführt werden, wovon man aber in der großen Praxis kaum einen Gebrauch macht. Andere zu diesem Zwecke angewendete Salze haben sich als weniger geeignet erwiesen. Übrigens wird durch die übliche Kochsalzzugabe, deren Menge im Maximum 2 Proz. ausmacht, die Zusammensetzung der sich schließlich einstellenden Mikrobenflora kaum nennenswert beeinflußt. Die rasche und ausgiebige Brühebildung in dem Maße, daß die ganze Oberfläche reichlich bedeckt ist, muß als unumgänglich notwendig angesehen werden, weil dadurch ein vollständiger Luftabschluß in der kürzesten Zeit erreicht ist, der für eine gut verlaufende Krautgärung unerläßlich ist.

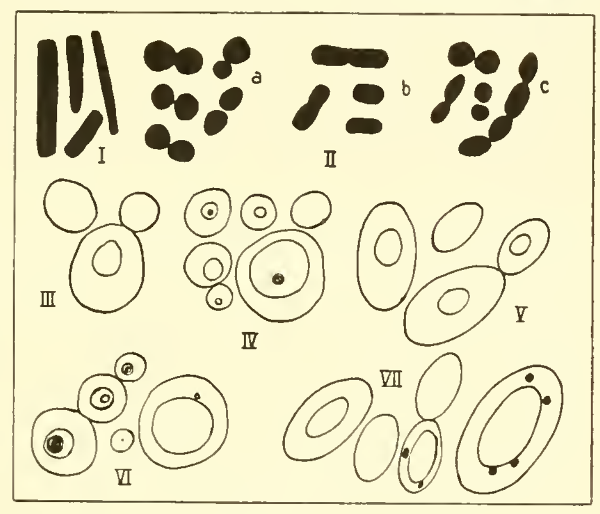


Fig. 81.

Die Mikrobenflora der Sauerkrautbrühe während der Vor- und Hauptgärung, die gewöhnlich in 3—4 Wochen abläuft, besteht vornehmlich aus Hefen, Mykodermen und Bakterien. Die Gasbildung während der Vorgärung geht auf eine durch die Hefen veranlaßte alkoholische Gärung zurück. In der Tat enthält die Sauerkrautbrühe 0,5—1 Proz. Äthylalkohol. Nach Wehmers Untersuchungen sind an der Gärung vornehmlich drei Saccharomyceten beteiligt, die sich schon durch die äußere Gestalt unterscheiden. In der Figur 81 sind die Sproßzellen in *III*, *IV* und *V* bei etwa 2000facher Vergrößerung nach den Zeichnungen Wehmers abgebildet. Saccharomyces Brassicae I

(*III* der Figur) ist eine kugelig-längliche kleinere Hefe von untergärigem Typus. Die Zellen bilden grauweiße, am Boden festanliegende Massen. Saccharomyces Brassicae II (*IV* der Figur) ist eine kugelige untergärige Hefe, während Saccharomyces Brassicae III (*V* der Figur 81) ellipsoidische, länger gestreckte Zellen aufweist, die ebenfalls in der Tiefe der Flüssigkeit vegetieren.

An Bakterienarten ist die Brühe sehr reich, von denen aber nur die Milchsäurebildner eine Bedeutung besitzen. Nach Wehmer sollen zwei in erster Linie in Frage kommen. Bacterium Brassicae ist eine Milchsäurebakterie, die kein Gas bildet und ziemlich variabel in seiner Form ist. *IIa*, *b* und *c* der Figur 81 gibt die Formen dieser Art wieder. *a* entspricht den Formen in einer älteren Krautsaftagarkultur, *b* denjenigen in junger Kohlsaftzucht und endlich *c* denjenigen in einer älteren Kohlsaftdextrosekultur. Bacterium Brassicae bildet viel Säuren, bis zu 0,9 Proz. und darüber. Wehmer isolierte noch eine zweite säurebildende Bakterienart, die lange, schlanke Stäbchen aufweist, wie es *I* der genannten Figur wiedergibt. Ihm scheint wegen des geringen Säuerungsvermögens jede praktische Bedeutung zu fehlen. Nach anderen Untersuchern sind an der Sauerkrautgärung gasbildende Milchsäurebakterien, wie Bacterium brassicae acidae Lehmann et Conrad, Bacillus opacus Weiß und Bacillus brassicae fermentatae Henneberg beteiligt.

Die Gärstoffe für die genannten Bakterienarten und Hefen liefern die Pflanzenteile selbst und ihre mit dem Zellsaft herausgelösten Bestandteile. An gasförmigen Gärprodukten beobachtet man besonders Kohlendioxyd, wenig Wasserstoff und Methan. Außerdem entsteht viel Alkohol und Milchsäure, dann noch eine Reihe flüchtiger und nichtflüchtiger Säuren, deren Menge und Art nach der Mikroorganismenflora und der Gärführung schwankt.

Die Veränderungen, die das Sauerkraut bei seiner Bereitung erfährt, sind aus der kleinen Tabelle ersichtlich, die Zahlen nach den Untersuchungen Conrads enthält.

Gehalt an:	Im Handelssauerkraut:	Im frischen Weißkohl:
Wasser	92,60 Proz.	91,10 Proz.
Gesamtstickstoff	0,11 „	0,24 „
Fett	0,74 „	0,10 „
Dextrose + Invertzucker	2,00 „	4,23 „
Zellulose	1,49 „	1,15 „
Asche	1,22 „	0,80 „
Freie Säure	1,26 „	0,00 „

Der Säuregehalt des Handelskrautes ist sehr schwankend und dürfte zwischen 0,2 und 1 Proz. Milchsäure betragen. Je älter das Kraut schon ist, bzw. die Krautbrühe, um so weniger Säure enthält es, da die Mykodermen, die sich besonders bei der Nachgärung ansiedeln und die Kahmhaut der Brühe ausmachen, intensiv Milchsäure verzehren. Nach Wehmer finden sich besonders zwei Arten von Kahmhefen, Mycoderma I oder weiße Kahmhefe (*VI* der Figur 81) und Mycoderma II oder graue Kahmhefe (*VII* der Figur 81).

Bei großen technischen Betrieben, wo kolossale Massen von Kraut in sehr großen Gärbottichen eingepreßt werden, kommt es anfangs meist zu einer gelinden Selbsterwärmung, die aber infolge des ungenügenden Luftzutritts nie zu besonders hohen Temperaturen führt.

Annähernd gleich verläuft die Sauerkrautgärung auch im Klein- und Hausbetriebe, wo es natürlich wegen der geringen Massen niemals zu einer Erwärmung kommen kann.

Im Anschlusse an das Sauerkraut ist noch das Komst- und Stschikraut zu erwähnen; beide Arten werden nur im Hause bereitet, letztere ausschließlich in Rußland.

Bei der Komstkrautbereitung werden die gereinigten, ganzen Krautköpfe kurze Zeit in kochendes Salzwasser eingebracht und einige Male darin aufgekocht. Nach dem Abtropfen kommen sie ganz oder geviertelt in Fässer oder Töpfe, werden mit kaltem Salzwasser überschichtet, beschwert und der Gärung überantwortet.

Beim Stschikraut wird ein Gemisch von fein geschnittenem Kraut, Möhrenscheiben, Äpfeln und Preißelbeeren mit Salz und Kümmel in Fässern eingelegt und mit Salzwasser überschichtet. Durch 14 Tage wird nun täglich mit einem Stock in die Gärmasse ein Loch gebohrt und dann erst beschwert und zu Ende vergoren.

Auch die **Säuerung von Gurken** verläuft derjenigen des Krautes ähnlich. Zum Einsäuern benützt man die noch nicht ausgereiften Gurkenfrüchte in dem Stadium der Reife, welches den größten Zuckergehalt aufweist. Dieselben kommen in Gläser oder Fässer unter Zugabe von verschiedenen Gewürzen. Dann übergießt man dieselben mit einer 4—6prozentigen Kochsalzlösung oder auch reinem Wasser soweit, daß sie davon vollständig bedeckt sind, da die herausstehenden Teile in der kürzesten Zeit verdorben werden. Durch eingesetzte, federnde Holzspangen werden die Gurken am Emporschwimmen gehindert. Die Gärung geschieht bei 25—35° C. Unter diesen Umständen setzt sie meist in den ersten 48 Stunden unter Schaumbildung ein, während das Maximum der Säuerung in etwa 2—3 Wochen erreicht wird. Mittlerweile hat sich die Oberfläche der Flüssigkeit mit einer Kahmdecke überzogen. Sobald die fertigen Sauergurken noch länger in höherer Temperatur verbleiben oder zu ihnen Luft Zutritt hat, nimmt die Säuremenge rasch ab und die Konserve verdirbt.

Man hat nun aus der Brühe der sauren Gurken eine Reihe von Mikroorganismen gezüchtet, von denen die einen als eher schädliche Begleitbakterien angesehen werden müssen, während die anderen die Säuerung veranlassen und durch die gebildete Milchsäure die ersteren größtenteils ausschalten. Dementsprechend trifft man die Begleitbakterien hauptsächlich in der Vorgärung. Es handelt sich meist um gut bewegliche Stäbchenbakterien, Bacillus coli, Bacillus fluorescens liquefaciens und non liquefaciens, Bacillus megatherium, Bacillus subtilis u. a., wie Aderhold dartun konnte. Für die Schaumbildung bei der Vorgärung scheint gerade der Kolonbazillus aufzukommen und nicht Saccharomyzeten und Torulazeen, wie wir es bei der Sauerkrautgärung kennen gelernt haben.

Später, bei der Hauptgärung, beherrschen verschiedene Milchsäurebakterien das Feld, von denen hier genannt seien: Bacterium Güntheri var. inactiva Aderhold, Bacillus ventricosus Weiss,

Bacillus cucumeris fermentati Henneberg, Bacillus Alderholdi Henneberg, Micrococcus tener Weiß und Pediococcus acidi lactici Henneberg. Haupterreger der Milchsäuregärung bei der Gurkensäuerung sind jedenfalls nicht bewegliche Stäbchenbakterien, die entweder solitär bleiben oder auch eine Neigung zur Bildung von Ketten aufweisen, kürzere und längere Formen besitzen, keine Sporen erzeugen, und Dextrose, Galaktose und Laktose vergären und Gelatine bei ihrem Wachstum nicht verflüssigen, wie diese Gruppe auch Aderhold kennzeichnet.

Die fertigen gesäuerten Gurken zeigen wesentliche Veränderungen in der Konsistenz und im Aussehen der Schnittflächen gegenüber den unreifen frischen Gurken. Das Gurkenfleisch ist weicher und zeigt eine mehr durchsichtige glasige Beschaffenheit. Diese Veränderung soll in erster Linie auf den Bacillus coli zurückgehen. Die Brühe enthält nun nach der Hauptgärung meist 0,5—0,8 Proz. Säure, als Milchsäure angenommen. In qualitativer Hinsicht besteht die Säure vornehmlich aus razemischer Milchsäure, während Essigsäure und Bernsteinsäure nur in Spuren vorhanden sind. Meist findet man noch geringe Mengen von Äthylalkohol.

Aanalysenergebnisse, aus denen die Veränderungen der Gurkensubstanz bei dem Einsäuern deutlich zu entnehmen sind, hat Aderhold geliefert. Dieselben sind in der folgenden kleinen Tabelle nach dem genannten Autor wiedergegeben[1]).

Gehalt in Prozenten an:	Frische Gurken:	Saure Gurken:		
		Säuerung im Faß	Offene Säuerung; aus demselben Gefäß Früchte größere	kleinere
Wasser	95,96	95,89	96,40	96,04
Trockensubstanz	4,04	4,11	3,60	3,96
Gesamtzucker	0,99	0,00	0,012	0,022
Traubenzucker	0,88	0,00	0,00	0,00
Rohrzucker	0,11	0,00	0,012	0,022
Stickstoffreie Extraktstoffe ohne Zucker	1,32	1,05	0,847	nicht bestimmt
Stickstoffhaltige Substanz . .	0,58	0,375	0,313	0,330
Fett	0,09	0,155	0,18	0,15
Holzfaser	0,68	0,35	0,45	nicht bestimmt
Asche nach Abzug des Kochsalzes	0,38	0,34	0,33	0,21
Kochsalz	—	1,65	1,27	1,29
Säure (auf Milchsäure berechnet)	—	0,19	0,20	nicht bestimmt

In der auf die Hauptgärung folgenden Nachgärung schwindet die Milchsäure recht beträchtlich. Als Säurezehrer kommen neben dem Bacillus coli in erster Linie Mykodermen, Torulaarten, dann noch verschiedene Schimmelpilze, auch Oidium lactis und andere in Betracht.

Enthülste **grüne Erbsen** und **Tomaten** werden in ähnlicher Weise eingesäuert, wie die Gurkenfrüchte. Im wesentlichen dürfte es sich bei diesen Umsetzungen ebenfalls um Milchsäuregärungen handeln. Im

1) Nach Alderhold, Haltbarmachung von Gemüse und Tierfutter durch Einsäuern, in Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 326 zitiert.

übrigen liegen über diese Säuerungsprozesse keine eingehenderen mykologischen Untersuchungen vor.

In Rußland, Rumänien und den östlichen Gebieten Österreichs pflegt man häufig **Äpfel** durch Einsäuern zu konservieren. Zu dem Ende legt man die gebrühten Äpfel in eine ca. 1—3proz. Kochsalzlösung, in der alsbald eine Gärung eintritt. Unter starker Schaumbildung, hervorgerufen durch eine alkoholische Gärung, findet dieselbe statt. Dabei entsteht rasch eine Alkoholmenge von etwa 1,5 Proz. und eine Säuremenge von etwa 0,5 Proz. Flüchtige Säuren scheinen nur in Spuren gebildet zu werden. Ältere Brühen enthalten ungefähr 2 Proz. Alkohol und 1,5 Proz. Säure, die etwa zur Hälfte aus flüchtigen Säuren, vornehmlich Essigsäure, bestand. Die saure Gärung besorgt Bacterium lactis aerogenes und die alkoholische Hefen. Daneben treten noch zahlreiche andere Bakterien und Pilze auf, die aber für die eigentlichen Umsetzungen nebensächlich sind und infolge Ansteigens des Milchsäuregehaltes alsbald ausgeschaltet werden.

Auch die grünen Hülsen der Bohnen, die sog. **Bohnenschotten** werden eingesäuert. Nach Entfernung der Fäden, also der an der Konkavität und Konvexität der Schotte entlangziehenden Sklerenchymfaserbündel, werden die Schotten maschinell in kleine Stücke geschnitten und unter Zugabe von Kochsalz, gebrüht oder roh in Glasgefäße gepreßt und beschwert. In der sich in kurzer Zeit ansammelnden Brühe entwickelt sich eine üppige und artenreiche Mikrobenflora, die neben einer alkoholischen Gärung und Milchsäuregärung meist auch eine Butter- und Essigsäuregärung hervorruft. Es wurden sehr viele Bakterien aus der Bohnenbrühe isoliert, auf die näher einzugehen zu weit führen würde. Jedenfalls ist hier das zahlreichere Auftreten von Kugelbakterien neben den Stäbchenformen bemerkenswert.

Wenn man Mehl mit Wasser anrührt und einfach bei Zimmertemperatur stehen läßt, so stellt sich in kurzer Zeit eine Gärung ein, die man als spontane **Mehlteiggärung** bezeichnet. Bei derselben sind Bakterien tätig, die den Teig kräftig säuern und gleichzeitig Gase entbinden. Von vornherein ist ja das Mehl niemals steril und mit dem zum Teig zugefügten Wasser gelangen ebenfalls zahlreiche Bakterien hinein. Daher zeigt sich im Mehlwassergemisch zu Beginn der Gärung auch eine artenreiche Flora, die aber in der Folge sehr reduziert wird. Der Bakteriengehalt des Mehles ist ja entsprechend der Herkunft und der Feinheit verschieden. Schon das Getreide ist sehr bakterienreich, denn nach den Angaben von Behrens enthielt ein Gramm deutschen Weizens 14—23000 Bakterien, während auf derselben Menge russischen Weizens 256—309000 nachgewiesen werden konnten. Russischer Roggen und Hafer ergaben in Millionen ausdrückbare Keimzahlen. Je vorsichtiger die Schale beim Mahlen vom Mehlkörper entfernt und je reiner und genauer die Trennung der Kleie vom Mehl durchgeführt wird, desto keimärmer ist das resultierende Mehl. Da nun das Roggenmehl immer gröber als das Weizenmehl erzeugt wird, ist letzteres im allgemeinen ärmer an Bakterien als ersteres, was auch diesbezügliche direkte Untersuchungen dargetan haben. Vertreter der Mesenterikus-

oder Kartoffelbazillengruppe sind besonders im Roggenmehl meist reichlich vertreten.

Da, wie schon oben angedeutet, die spontane Mehlteiggärung eine saure Gärung ist, bei der ziemlich reichlich Milchsäure produziert wird, werden dabei im wesentlichen doch nur verhältnismäßig wenige Bakterienarten beteiligt sein. Die bezüglichen Untersuchungen haben auch ergeben, daß es sich hier um eine reine Bakteriengärung handelt. Vornehmlich soll der Bacillus levans Wolffin, der in hohem Maße dem Bacillus coli nahe steht und sich von ihm nur durch das Verhältnis zwischen der gebildeten Kohlendioxyd- und Wasserstoffmenge, durch die schnellere Bewegung und endlich durch seine Fähigkeit der Gelatinepeptonisierung unterscheidet, das „Aufgehen“ des Mehlteiges besorgen, während Milchsäurebildner die Säuerung hervorrufen. Ein zweites Kurzstäbchen, das auf der Gelatineplatte unter Verflüssigung gelbe Kolonien bildet, fakultativ anaërob ist und Laktose und Dextrose unter kräftiger Gasbildung vergärt, ist ebenfalls am Steigen eines solchen Mehlteiges häufig beteiligt. Übrigens gelingt es auch, in sterilem Mehlteig mit dem Bacillus coli allein diese Erscheinungen hervorzubringen. Wenn auch echte Milchsäurebakterien fehlen, genügen die bei der Zuckervergärung durch den Bacillus levans entstehenden organischen Säuren, die übrige Flora am Wachstum zu verhindern oder sie zu vernichten, womit gleichzeitig die Buttersäuregärung und Fäulnis der Kleberproteide ausgeschlossen wird. Denn von vornherein sind immer Buttersäurebakterien und deren Sporen und auch Fäulniserreger in beträchtlicher Menge vorhanden.

In der Praxis benutzt man die reine Mehlteiggärung ohne weitere Zusätze allein höchst selten. So wird beispielsweise in Posen das sog. „Wasserbrot“, ein Schrotbrot, nur durch eine reine Mehlteiggärung vor dem Backen gelockert. Bei der Gärung des Nürnberger Lebkuchen-teiges, der mit Honig, Mehl und Syrup unter Kaliumkarbonatzugabe und anderen Zusätzen angemacht wird und lange Zeit lagert und gärt, scheinen übrigens auch ausschließlich Bakterien beteiligt zu sein.

Zur Brotbereitung von altersher gebräuchlich ist die Verwendung des **Sauerteiges**, dessen Gärung eine gemischte ist. Trotz der auch hier reichlichen Mikrobenflora machen besonders zwei Prozesse die Sauerteiggärung aus. Der eine Vorgang ist eine saure Gärung, die auf Bakterien zurückgeht, während die Gasbildung und damit verbundene Lockerung des Teiges durch eine von Hefen ausgelöste alkoholische Gärung hervorgebracht wird. Das bei der Sauerteiggärung des Brotes gebildete Gas besteht ausschließlich aus Kohlensäure, womit eine Tätigkeit des früher genannten Bacillus levans ausgeschlossen erscheint, da wir hörten, daß durch ihn ein Gasgemisch gebildet wird, zusammengesetzt aus viel Kohlendioxyd und wenig Wasserstoff. Bei der Sauerteiggärung ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß neben Hefen, besonders dem Saccharomyces minor, im Anfang zahlreiche Bakterienarten vorhanden sind, deren Zahl diejenige der Sproßpilze hoch übersteigt. Bei der Brotgärung mit dem Sauerteig, die gewöhnlich in etwas höherer Temperatur zwischen 20 und 35° C stattfindet, vermehren sich die Saccharomyceten sehr rasch, während alle anderen Bakterienarten, mit Ausnahme der Milchsäurebildner, unterdrückt und zumindest am Wachstum gehindert werden. Die entstehende Milchsäuremenge hindert noch

überdies wieder das Wachstum der Hefen. Von den Milchsäurebakterien scheinen in erster Linie Vertreter des Bacillus acidificans longissimus Lafar die wichtigste Rolle zu spielen. Auch der Bacillus panis fermentati Henneberg, ebenfalls eine Milchsäurebakterie, findet sich häufig bei der Sauerteiggärung. Neben Milchsäure tritt als zweites Gärprodukt auch Essigsäure in den Vordergrund, deren Menge diejenige der Milchsäure meist erheblich übertrifft, so weit sich die Angaben auf Schwarzbrote beziehen. Butter- und Ameisensäure entstehen nur in geringen Mengen. Übrigens hängt die Gesamtmenge der Säure wesentlich von der Gärdauer und der Temperatur ab. Sowohl die Alkoholmenge als auch die Quantität der flüchtigen Säuren erfährt durch das Backen des Brotes eine starke Reduktion. Außerdem ist noch beim Backen an einen Zusammentritt der flüchtigen Säuren und des Alkohols zu Estern zu denken. Ist ja gerade das mit Sauerteig hergestellte Brot durch einen angenehmen aromatischen Geruch ausgezeichnet. Allerdings könnte derselbe auch auf spezifische aromabildende Bakterien oder Hefen zurückgehen. Immerhin ist dies unwahrscheinlich, da man am fertig gegorenen ungebackenen Brotteig kaum einen Estergeruch wahrnimmt.

Eine tiefere Zersetzung der Kleberproteide kommt bei der normalen Sauerteiggärung und Brotgärung nicht vor. Nur in sehr alten Sauerteigmassen finden ausgedehntere Zersetzungen der Eiweißstoffe statt, die schon einer echten Fäulnis nahekommen. Sonst dürfte die Spaltung der Proteide nur einen solchen Umfang annehmen, daß gerade der Stickstoffbedarf durch die dabei entstehenden Abbauprodukte gedeckt wird.

Die vom Getreide ins Mehl kommenden, sporenbildenden Bakterienarten, besser gesagt ihre Sporen, überdauern im Innern der größeren Gebäcke, wie Brotlaibe, die Backtemperatur und können sich unter günstigen Umständen dann im fertigen Brote vermehren. Unter diesen Bakterienarten gibt es einige, die dann zum Verderben desselben führen. So ist eine solche durch gewisse Bakterien verursachte, krankhafte Veränderung das

Fadenziehen des Brotes.

Dasselbe stellt sich meist in den Sommermonaten, also in der warmen Jahreszeit, ein. Das fadenziehende Brot zeigt an den Bruchstellen beim Auseinanderziehen derselben feine, sich spinnende Fäden. Außerdem machen diese Stellen den Eindruck größeren Feuchtigkeitsgehaltes. Die Rinde zeigt meist überhaupt keine Veränderungen. Die Krume ist entweder nur wie durchweicht oder schmutzig verfärbt und schmierig oder zeigt keine nennenswerten abweichenden Erscheinungen. Dem Brot selbst entströmt entweder ein angenehmer, obstartiger, aromatischer oder süßlicher, fader Geruch oder endlich ein Gestank nach Baldriansäure oder faulenden Stoffen. Schon diese Erscheinungen deuten an, daß es sich um verschiedene Erreger bei dieser Brotkrankheit handelt. In der Tat hat es sich herausgestellt, daß unter ihnen doch solche Verschiedenheiten in morphologischer und kultureller Hinsicht vorliegen, die eine Unterscheidung in mehrere Arten notwendig machen. Im allgemeinen handelt es sich dabei um sporenbildende Stäbchenbakterien, welche in naher verwandtschaftlicher Beziehung stehen und gewöhnlich in der Gruppe der Kartoffelbazillen vereinigt werden. Dieselben sind entweder aërob

Zusammenstellung der morphologisch-biologischen

Name der Bakterienart und Synonyme	Bacillus mesentericus (Flügge) Mig. = B. mesentericus fuscus Flügge	Bacillus vulgatus (Flügge) Mig. = Bacillus mesentericus vulgatus (vulgaris) Flügge	Bacterium mesentericum = Bacillus mesentericus panis viscosi I Vogel
Wurde in fadenziehend. Brot beobachtet von	Juckenack	Kretschmer u. Niemslowicz, Uffelmann, Lehmann	Vogel, v. Czadek u. Kornauth
Größe und Form der Stäbchen	0,8—2,4 μ lang, 0,7—0,9 μ breit, mit abgerundeten Enden	1,6—5 μ lang, 0,8 μ breit. Enden nur schwach abgerundet	3—5 μ lang, plump, an den Enden abgerundet
Beweglichkeit	Gut beweglich	Beweglich	Unbeweglich
Färbbarkeit nach Gram	Färbbar	Färbbar	Färbbar
Sporenbildung	Rundliche, in der Zelle regellos verteilte endogene Sporen	Große elliptische Sporen	Ovale, mehr in der Zellmitte liegende glänzende Sporen
Resistenz der Sporen		Mehrstündiges Kochen soll sie mitunter nicht töten	Nach 1 Stunde im strömend. Dampf b. 100° C noch lebensf.
Gelatineplatte	Rundliche, grauweiße Kolonien mit flachem Verflüssigungstrichter	Kolonien verflüss. d. Gelatine unt. Bild. ein. zarten, gefältelt. u. festen Häutch. auf der verflüss. Masse	Flach. Verfl.-Tricht. m. grauweiß. Zentr. u. häutchenart. a. d. Oberfl. d. Gelat. lieg. äußeren Partien
Gelatinestichkultur	Zuerst schalenförmige Einsenk., dann rasche sackförm. Verflüssigung unt. Bildung eines grauweißen Deckhäutchens	Zuerst grauweiße, glänzende Auflagerung, dann strumpfförm. Verflüss. m. derben Häutchen an der Oberfläche	Langsame, strumpfförmige Verflüssigung
Agarplatte	Dünne, rundl., durchscheinende, graue Auflager. m. verdickt. weißl. Zentrum	Glattrandige, zieml. dicke, weißgraue Auflagerungen	Graubraune grobkörnige Kol. m. gewundenen u. zart. Ausl. i. d. umg. Nährb.
Agarstrichkultur	Feuchtglänz., gelbbraun b. grau gefärbter, welliger Belag	Üppiger, welliger, gelappt. Belag mit unregelmäßigen Falten	Blaugrauer, durchscheinender Belag
Bouillonkultur	Mäßige Trübung m. Hautbildung an der Oberfläche	Schwache Trübung. Festes grauweißes Häutchen	Gutes Wachstum
Kartoffelscheibenkultur	Anfangs flache, glänzende, graugelbliche Auflager., später unregelmäß. Maschenwerk v. gelbgrauer Farbe u. matt. Aussehen	Darmschlingenähnl. Belag von weißlichgrauer, gelblicher oder rosabräunlicher Farbe. Manchmal ist derselbe schleimig	Anfängl. weiß, dann grau verfärbt; mehr schmierig. Später parellel verlauf., oft seidenglänz. Falten
Milchkultur	Ausfällung des Kaseins	Schleimig geronnen, später Lösung der Koagula	Ausfäll. d. Kaseins u. nachh. Lös. desselb.
Anaërobes u. aërobes Wachstum	Schlechtes Wachstum bei Sauerstoffabschluß	Schlechtes Wachstum bei Sauerstoffabschluß	Streng aërob
Temperaturoptimum			35—37° C
Erscheinung bei der Brotzersetzung	Krume m. zahlr., bräunl. Pünktch. durchsetzt. Dabei ekelerreg. aromat. Geruch. Reaktion d. viscösen Partien schwach sauer	Krume in eine klebrige, fadenziehende Masse von bräunlicher Farbe verwandelt. Dabei eigenartiger Geruch	Zersetz. d. Brotkrume unt. Bild eines. unangenehmen, widerlich. Geruchs, Krume stark fadenziehend

Daten einiger Erreger des Fadenziehens beim Brote.

Bacillus panis (Vogel) Mig. = Bacillus mesentericus panis viscosi II Vogel	Bacillus liodermos Flügge = Gummibacillus Löffler	Bacterium panis Fuhrmann
Vogel, Thomann	Uffelmann	Fuhrmann
4—7 μ lang, schlank	2—5 μ lang, 0,8 μ breit	2—4 μ lang, 1—1,2 μ breit, abgerundete Enden
Lebhaft beweglich	Beweglich	Nicht beweglich
Färbbar		Färbbar
Ovale, hellglänzende Sporen	Endogene Sporen	Ovale, endogene, in der Zellmitte liegende Sporen
Übersteh. n. eine Einwirk. d. ström. Wasserdampfes bei 100° C von 15 Min.		25 Minuten gegen strömenden Wasserdampf von 100° C
Flacher Verflüssigungstrichter. Ausläufer in die umgebende Gelatine	Weiter Verflüssigungstrichter. Die trübe Flüssigkeit ist von einer grauweißen Haut bedeckt	Seichte, scharf begrenzte Verflüssigungsdellen, von einer schwach getrübten Flüssigkeit erfüllt. Später zartes Häutchen
Energische, stumpfförmige Verflüssigung		Zuerst flache, breite Verflüssigungsdelle um den Impfstich, dann sackförmige Verflüssigung, zartes Häutchen
Kolonien mit dunklem Kern und zarten Ausläufern		Entweder runde, grauweiße trockene, an den Rändern zarte Auflagerung mit verdickter Mitte oder schneekristallart. feuchte, glänz. Kolon.
Trockener, grauweiß. Rasen		Weißgelb durchschein., wachsartige dünne Auflagerung. Kondenswasser leicht getrübt, zart. Häutch. darauf
Kräftiges Wachstum		Mäß. Trüb. i. d. oberflächl. Flüssigkeitsschicht., dünn. Deckhäutchen, gelbweißer Bodensatz
Anfänglich schleimiger, grauer Belag, später grauweiß und faltig	Gummiähnlicher, durchscheinender Belag, später ähnlich dem d. B. vulgatus. Überzug in H_2O löslich u. daraus d. Alkohol fällbar	Bei 37° C schleimiger dicker feuchter Belag von gelber bis hellgelbbrauner Farbe, stark fadenziehend, nicht gefaltet
Ausfällung des Kaseins u. nachher. Auflös. desselb.	Gerinnung	Ausfällung des Kaseins, dann Lösung desselben
Fakultativ anaërob		Streng aërob
40—42° C	(Wächst bei Zimmer- und Bruttemperatur)	37° C
Zersetzung der Krume und Bildung fadenziehender Substanzen	Krume von braunrötlichen, klebrigen u. fadenziehenden Massen m. süßlichem Geruche durchsetzt. Reaktion der Massen neutral	Die an den betreff. Stellen durchfeuchtete Krume enthält i. d. Poren weißl. glänz. Knötchen. Geruch angenehm aromatisch. Reakt. sauer. Farbe nicht verändert

oder fakultativ anaërob und vertragen kaum sehr niedrige Sauerstoffspannungen. In der Tabelle auf S 258 u. 259 sind die wichtigsten morphologischen und biologischen Merkmale der meisten bekannteren und genauer beschriebenen Erreger des Fadenziehens beim Brote zusammengestellt. Außerdem sind dort die Erscheinungen verzeichnet, welche sie im Brote hervorbringen.

Einen kleinen Einblick in die morphologischen Verschiedenheiten beim Wachstum auf der Kartoffelscheibe, Agar und in Gelatine von drei verschiedenen Erregern des Fadenziehens beim Brote gestattet die Figur 82. Hier sehen wir in *1* eine 24stündige bei 37° C gezogene Kartoffelkultur von Bacillus mesentericus fuscus, in *2* eine ebenso alte unter denselben Bedingungen gehaltene Kartoffelkultur von Bacterium panis und endlich in *3* von Bacillus panis viscosi I. Bemerkenswert ist der Versuch noch deshalb, weil hier Kartoffelzylinder ein und derselben Kartoffel verwendet wurden, um jede Ungleichkeit des Nährbodens auszuschalten. Die Unterschiede in der Oberflächenbeschaffenheit der drei Auflagerungen sind so augenfällig, daß darüber weiter nichts zu berichten ist. In *4*, *5* und *6* der Figur 82 sind gleichalterige (40stündige) bei 22° C gehaltene Gelatinestichkulturen abgebildet. Man sieht, daß die Verflüssigungskraft bei den drei Arten verschieden ist, am größten beim Bacillus panis viscosi I (*6*), geringer bei den beiden anderen Bakterien. Auch das Oberflächenwachstum auf Nähragar bei 37° C ist verschieden, wie aus *7*, *8* und *9* zu entnehmen ist. Die Oberflächenbeschaffenheit der in 24 Stunden bei dieser Temperatur angegangenen Auflagerungen weist ebenfalls Unterschiede auf. Die Bakterien sind auch in dieser Versuchsreihe in derselben Reihenfolge wie früher aufgeführt. Große Verschiedenheiten zeigen die auf der Agarplatte entstehenden Kolonien, wie es *10* *11* und *12* zeigen. *10* entspricht bei 20facher Vergrößerung der Kolonie von Bacillus mesentericus fuscus. Wir sehen rundliche, vielfach leichtgebuchtete Auflagerungen, deren Oberfläche eine durchwegs körnige Beschaffenheit aufweist. Wesentlich anders sieht die in *11* wiedergegebene Kolonie des Bacterium panis aus; die Auflagerungen sind meist kreisrund, in der Mitte glatt und mit Ringen versehen, während nur der zartere Rand eine körnige Beschaffenheit aufweist. Wieder anders sehen die flächenhaften Auflagerungen des Bacillus panis viscosi I aus, wie es *12* der Figur 82 erkennen läßt. Die mittlere Partie der Kolonien zeigt eine leichte Faltenbildung und Äderung, während der Rand ganz glatt aussieht. Auch die einzelnen Stäbchen besitzen verschiedene Form, wie es *13* und *14* dartut. Wir sehen hier sporulierende Formen neben Vegetationszellen. Beim Bacterium panis (*13*) sind die Stäbchen plump und gedrungen, die Sporen liegen meist in der Zellmitte und bei ihrer Anlage kommt es zu keiner Auftreibung der Sporenmutterzelle. Ganz anders sehen die Vegetationsformen von Bacillus mesentericus fuscus aus. Die Stäbchen sind länger und schlanker. Bei der Sporulation, die meist einem Zellpole etwas genähert einsetzt, findet eine geringe Auftreibung des Sporangiums statt. Diese wenigen Vergleiche werden die große Verschiedenheit der Vertreter der Mesenterikus- oder Kartoffelbazillengruppe zur Genüge dargetan haben.

Die chemischen Veränderungen, die durch das Wachstum der Erreger des Fadenziehens im Brote hervorgerufen werden, sind ebenfalls

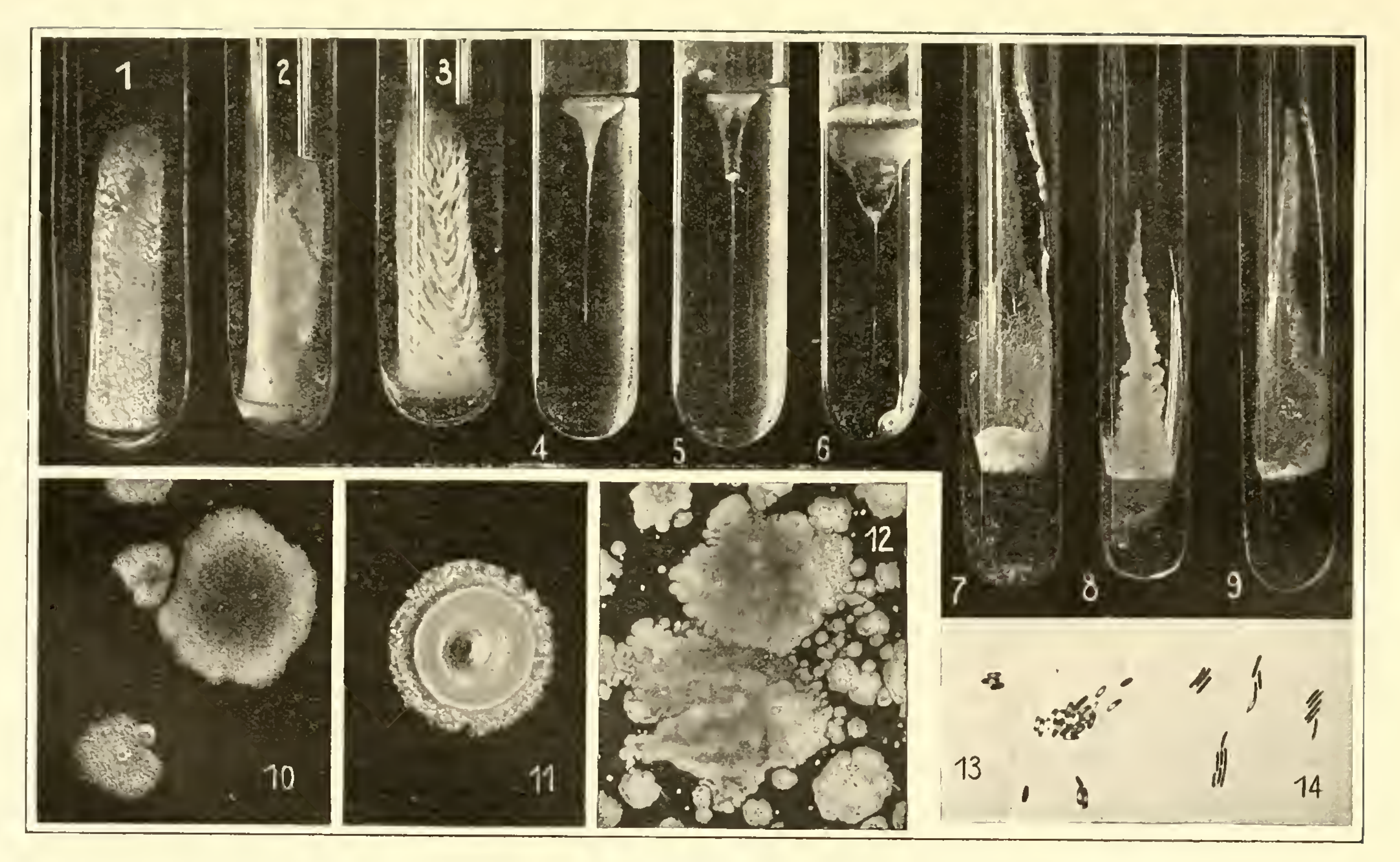


Fig. 82.

verschieden. Im allgemeinen findet eine kräftige Verzuckerung und Dextrinbildung aus der Stärke statt, während das Fett und die Rohfaser intakt bleibt. Der Abbau der Kleberproteide kann geringfügig sein und nur in einer schwachen Hydrolyse bestehen oder sehr tief erfolgen bis zum Auftreten der einfachsten Spaltungsprodukte, wie Ammoniak. In dem Schleime und den fadenziehenden Massen konnten neben Stärke, Dextrin und Zucker auch komplexe Polypeptide nachgewiesen werden. Nach allen vorliegenden Untersuchungen kann es wohl als sichergestellt gelten, daß die Schleimmassen selbst weder als Zersetzungsprodukte der Stärke noch des Klebers aufzufassen sind, sondern als verquollene und verschleimte Massen der Zellwand der Bakterien.

Wie schon gesagt, gelangen die Erreger des Fadenziehens schon aus dem Mehle in das Brot, wo sie sich unter günstigen, äußeren Bedingungen entwickeln. Die Kornmehlsorten sind an solchen Bakterien besonders reich, während man sie im Weizenmehl mitunter vollkommen vermißt. Zu ihrer Entwicklung im Brote verlangen sie eine höhere Temperatur, die zwischen 20 und 30° C liegt, eine genügende Feuchtigkeit und neutrale oder sehr schwach alkalische Reaktion desselben. Deshalb tritt diese Brotkrankheit immer im Hochsommer zur heißesten Zeit ein und befällt die mit Hefe bereiteten größeren Brote, besonders dann, wenn sie nur aus Roggenmehl oder mit einem erheblichen Roggenmehlzusatz hergestellt worden waren. Reines Weizengebäck bleibt meist davon verschont. Abgesehen von der bei kleinen Brötchen im Innern herrschenden höheren Backtemperatur tritt das Fadenziehen bei ihnen schon deshalb nicht in Erscheinung, selbst wenn die Erreger vorhanden sind, weil die kleinen Brötchen alsbald nach der Herstellung verzehrt werden und selbst bei längerer Aufbewahrung rasch austrocknen, wodurch ebenfalls die Entwicklung dieser Bakterien verhindert wird.

Als bestes Abwehrmittel empfiehlt sich eine recht niedrige, unter 15° C liegende Aufbewahrungstemperatur. Außerdem kann ein genügender Milchsäurezusatz oder ein Ersatz der Hälfte des zur Teigbereitung notwendigen Wassers durch saure Molke dem Übel steuern.

Nach dem Genusse fadenziehenden Brotes sah man mitunter bei Menschen und Tieren Krankheiten auftreten. Es dürften wohl hier die Bakterien nicht an und für sich pathogen sein, sondern durch ihre Stoffwechsel- und Zersetzungsprodukte die manchmal beobachteten Magen- und Darmstörungen verursacht worden sein.

Die Mikrobenflora des Senfes gleicht in vielen Beziehungen derjenigen des Mehles und Brotes. Auch hier enthalten die Senfkörner sehr viele Mikroorganismen. Im allgemeinen ist der Keimgehalt der schwarzen Senfsamen bedeutend größer als derjenige der weißen Samen. Folgende Zahlen von Kossowicz tun dies dar:

Keimgehalt des gequetschten schwarzen Senfsamens	40000	pro 1 g
„ „ „ weißen „	4000	„ 1 „

Bei der Bereitung des französischen Senfes kommen dazu noch die vom zugesetzten Gewürz stammenden Mikroorganismen, deren Zahl im allgemeinen noch beträchtlicher ist als diejenige der Senfsamen.

Der französische Senf wird nun in der Weise hergestellt, daß ein Gemisch von schwarzen und weißen Senfkörnern in zerquetschtem, seltener gemahlenem Zustande samt zahlreichen Gewürzen mit einem 2 bis 5 Proz. Essigsäure enthaltenden, aromatisierten Essig in Fässern eingemacht und einer Fermentation überlassen wird. Bei derselben entsteht durch Enzyme der Senfsamen reichlich Senföl. Letzteres geht auf eine Glykosidspaltung zurück, indem das Enzym Myrosin das Sinigrin der schwarzen Senfsamen und das Sinalbin der weißen Samen abbaut.

Es scheinen die Vorgänge nach folgenden Formeln zu verlaufen:

$$\underset{\text{Myrosinsaures Kali = Sinigrin}}{C_{10}H_{16}NS_2KO_9} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + \underset{\text{Allylsenföl}}{C_3H_5CNS} + KHSO_4$$

Die Zerlegung ist also eine hydrolytische Spaltung unter Bildung von Glykose, Allylsenföl und Kaliumbisulfat.

$$\underset{\text{Sinalbin}}{C_{30}H_{42}N_2S_2O_{15}} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + \underset{\text{Sinalbinsenföl}}{C_7H_7O \cdot CNS} + C_{16}H_{24}NO_5HSO_4$$

Auch diese Glykosidspaltung ist hydrolytischer Natur und liefert Sinabinsenföl neben Glukose und Sinapinbisulfat.

Diese Fermentation findet also unabhängig von jeder Bakterientätigkeit statt. Dabei fehlt auch jedwede Wärmeentwicklung. Die Entwicklung der mit eingebrachten zahlreichen Mikroben findet schon hier infolge der Senfölbildung eine starke Hemmung.

Nunmehr wird der fermentierte Senf zuerst grob und dann fein gemahlen. Dabei findet eine recht beträchtliche Temperatursteigerung statt. Die Wärme erreicht 60—70°. Diese Temperaturzunahme in Verbindung mit der Säurewirkung und derjenigen des Senföles führt zu einer rapiden Abnahme der Bakterien in dem nunmehr fertigen Senf, die sogar bis zu einer völligen Sterilisation führen kann. Die überlebenden Arten gehören fast ausschließlich Sporenbildnern an, wie der Gruppe Bacillus subtilis und Bacillus mesentericus. Unter günstigen Bedingungen beim Aufbewahren und Konsum des Senfes kann es in der Folge zu einem Aufleben solcher Bakterien kommen, die dann als Senfzerstörer fungieren. Die anderen, noch zahlreich im Senf nachgewiesenen Mikroorganismen scheinen durch spätere Infektionen in den fertigen Senf zu gelangen und ihn kaum besonders anzugreifen.

Kossowicz hat nun zwei besondere Senfzerstörer näher untersucht und beschrieben, den Bacillus sinapivorax und den Bacillus sinapivagus. Besonders letzterer steht den Kartoffelbazillen sehr nahe. Übrigens konnte der genannte Autor neben Subtilisbakterien auch die bekanntesten Mesenterikusarten im zersetzten Senf nachweisen. In einem Falle scheint die Zerstörung auf eine Fäulnisbakterie, das Bacterium vulgare, zurückzugehen. Diese Senfprobe besaß dementsprechend auch einen außerordentlich unangenehmen Geschmak und Fäkaliengeruch. Sonst findet bei der bakteriellen Senfzerstörung meist eine kräftige Gasbildung, Verflüssigung und Abnahme des Senfölgehaltes und Säuregehaltes statt. Die Entsäuerung wird durch eine Weiteroxydation der Essigsäure durch wilde Essigbakterien oder meistens durch Mykodermen hervorgerufen.

Literatur zur Vorlesung XX.

Aderhold, R., Die Haltbarmachung von Gemüse und Tierfutter durch Einsäuern. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 310.

Wehmer, C., Untersuchungen über Sauerkrautgärung. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 14, S. 682, 1905.

Wehmer, C., Über Alkoholbildung bei der Sauerkrautgärung. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 28, S. 97, 1910.

Kossowicz, A., Mykologische u. warenkundliche Notizen. Zeitschr. f. d Landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich, Bd. 14, 1911. VI. Die Apfelsäuerung. II. Zur Mykologie des Sauerteiges.

Burri, R. und Holliger, W., Zur Frage der Beteiligung gasbildender Bakterien beim Aufgehen des Sauerteiges. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 23, S. 99, 1909.

Lafar, F., Mykologie des Bäckereiwesens. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 504.

Fuhrmann, F., Über die Erreger des Fadenziehens beim Brote. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 15, S. 385, 1905.

Kossowicz, A., Einführung in die Mykologie der Genußmittel usw. Mykologie der Senffabrikation. Berlin 1911.

EINUNDZWANZIGSTE VORLESUNG.

Essigbakteriologie.

Wir haben bisher nur genaueres über eine Essiggärung gehört, die als Begleiterscheinung der Milchsäuregärung auftritt und streng anaërob, also ohne Zutritt der Luft abläuft. Für die bei der Essigfabrikation sich abspielende Essiggärung liegen die Verhältnisse wesentlich anders, denn hier entsteht die Essigsäure durch die Alkoholase der Essigbakterien, wobei die Oxydation des Äthylalkohols mit Hilfe des Sauerstoffes der Luft durchgeführt wird. Näheres über diesen Vorgang haben wir bei der Besprechung der Oxydasen erfahren.

Für diese aërobe Essiggärung kommen nun eine Reihe von Mikroorganismen in Betracht, die mehr oder minder kräftig Essigsäure erzeugen. Die Flora wechselt auch mit den Methoden der Essigherstellung. Dieselbe geschieht nämlich nach verschiedenen Verfahren, die hier nur ganz kurz gestreift werden sollen. Im allgemeinen herrschen dabei zweierlei Prinzipien. Entweder strömt die zu Essigsäure zu oxydierende, alkoholhältige Flüssigkeit in langsamem Strome über die Essigbakterien hinweg oder die Essigbakterien bilden auf der ruhenden alkoholischen Flüssigkeit Häute aus, die sog. Essigmuttern, in denen die Bakterien die Oxydation des Äthylalkoholes vollziehen. Nach dem zuletzt genannten Prinzipe arbeitet man stets im Hausbetrieb im kleinen und beim Orleansverfahren im großen, während bei der Schnellessigfabrikation nach dem erstgenannten Prinzip verfahren wird.

Die Schützenbachsche Schnellessigfabrikation wird nun in großen 2—3 m hohen und 1 m breiten Holzfässern, den sog. Essigbildnern durchgeführt. Zwischen zwei im Innern des Fasses angebrachten Böden befinden sich Buchenholzspäne, an denen sich die Schnellessigbakterien ansiedeln. Das Essiggut rieselt nun in sehr langsamem Strome über die Späne und wird dabei von den Essigbakterien oxydiert. Diese Essigbildner stehen in der sog. Essigstube, in der eine Temperatur von 20—25° C herrscht. In den in Betrieb befindlichen Essigbildnern herrscht eine Temperatur von 25—30° C. Die Erwärmung ist eine Folgeerscheinung der intensiven Oxydation des Essiggutes. An ihr kontrolliert man unmittelbar den Verlauf der Essigbildung.

Der Weinessig wird im großen nach den Orleansverfahren hergestellt, von denen man zwei unterscheidet. Beim älteren benutzt man große, 2—4 Hektoliter fassende Fässer aus Eichenholz, die oben zahlreiche Luftlöcher tragen. Dieselben werden in den auf 20—25° temperierten Essigstuben aufgestellt. Sie werden beim Beginn der Erzeugung etwa

bis zu einem Drittel mit fertigem, guten, siedendheißen Weinessig gefüllt. Nach dem Erkalten desselben werden noch 10—12 Liter Wein nachgeschüttet. In kurzer Zeit bildet sich auf der Oberfläche des Wein-Essiggemisches eine Essigmutter aus, von der aus sich die Essiggärung vollzieht. Nach ungefähr einer Woche setzt man neuerlich die gleiche Menge Wein wie früher zu und wiederholt in der Folge in denselben Zeitintervallen die Weinzusätze, bis der Essigständer etwa zur Hälfte voll ist. Dann hebert man ungefährt $^{2}/_{3}$ des entstandenen Essigs heraus und fährt wieder neuerlich mit den Weinzusätzen fort.

Pasteur begründete das neue Orleansverfahren, bei dem in das Essiggut ein Stück Essigmutter unmittelbar übertragen wird. Die Fässer werden dabei beim Ansetzen mit einer Lösung gefüllt, die 1 Proz. Weinessig, 2 Proz. Alkohol und sehr geringe Mengen von Ammonphosphat, phosphorsauren Alkalien und alkalischen Erden enthält. Nachdem nach der Verimpfung der Kahmhaut diese Ansatzflüssigkeit in voller Essiggärung sich befindet, setzt man täglich kleine Portionen Wein oder Bier mit einem Alkoholzusatz oder Alkohol allein solange zu, als eine kräftige Oxydation herrscht. Um eine bessere Ernährung und eine damit verbundene kräftigere Gärwirkung der Essigbakterien herbeizuführen, fügt man häufig Rosinenabkochungen, Apfelwein, Getreideaufgüsse u. dgl. hinzu.

Der Weinessig wird nun auch noch nach anderen Verfahren bereitet, bei denen die Weinessigmaischen nicht in ruhigem Zustande der Essiggärung überlassen werden. In diesem Falle benutzt man dazu die Michaelischen Drehfässer.

Bei diesen Verfahren sind nun sehr verschiedene Essigbakterien tätig, die sich morphologisch und in bezug auf ihre Ernährung mehr oder weniger unterscheiden. Alle aber sind aërob und ohne Vermögen der Sporenbildung und besitzen die Eigenschaft, auf höhere Temperaturen durch die Bildung größerer und kleinerer Riesenwuchsformen zu reagieren. Beim Einbringen derselben in optimale Temperaturverhältnisse gehen aus ihnen wieder normale Stäbchenformen hervor. Über diese Formveränderungen haben wir schon früher genaueres gehört. Alle Essigbakterien gehören zu den Stäbchenbakterien.

Alle Essigbakterien zeichnen sich nun durch eine mehr oder minder ausgesprochene Kahmhautbildung an der Oberfläche der Nährsubstrate aus. Diese Zoogloëen sind in vielen Fällen zart und dünn, mehr oder weniger verschleimt und fester oder lockerer gefügt. Die zwischen den Zellen liegenden Massen sind als Produkt der lebenden Zellen selbst aufzufassen. Bei einigen Arten werden ungeheure Gallertmassen von fast knorpeliger Konsistenz erzeugt, in denen die Zellen nur verhältnismäßig spärlich zu finden sind. Als Beispiel dafür kann das Bacterium xylinum Brown gelten, dessen massige Zoogloëen oft die ganze Flüssigkeit erfüllen und durchsetzen. Übrigens ist das Hautbildungsvermögen bei allen Essigbakterien in großem Maße von den Ernährungsbedingungen abhängig, weshalb ein und dieselbe Art unter verschiedenen Züchtungsbedingungen verschieden dicke und verschieden gebaute Zoogloëen aufweist. Als Beispiel diene hier das Acetobacter plicatum Fuhrmann. Diese Weinessigbakterie erzeugt bei der Zucht in sterilisiertem, entalkoholisierten Bier dünnere, sehr durchsichtige, mehr schleimige und fädige Kahmhäute, während sie auf sterilem Bier mit dem üblichen Alkoholgehalt zähe, fast undurchsichtige, trockener aussehende und homogene

Häute hervorbringt. Aus der Figur 83 sind diese Verhältnisse deutlich zu erkennen, wo die beiden Essigmuttern auf schwarzer Unterlage photographiert wiedergegeben sind. *A* dieser Figur zeigt uns die Zoogloëa

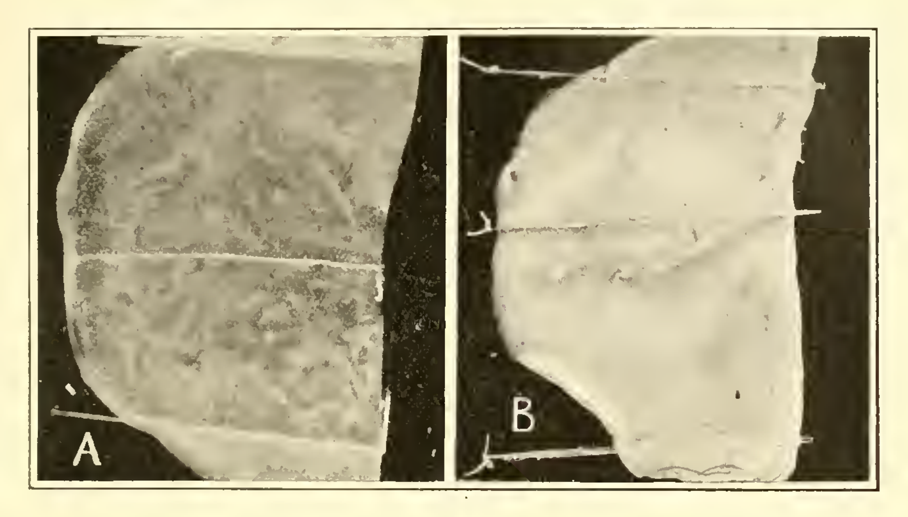


Fig. 83.

auf alkoholfreiem Bier nach 10tägigem Wachstum bei 20 ° C. während *B* derjenigen entspricht, die auf gewöhnlichem Bier nach ebenso langer Zeit entstand. Überhaupt sind die vorhandenen Kohlehydrate mit maßgebend für das Aussehen und die Struktur der Essighäute.

Wenn wir an feinen Querschnitten die Lagerung der Bakterien in der Zoogloëa und die Struktur derselben untersuchen, so finden wir bei ein und derselben Essigbakterienart ebenfalls Unterschiede in dieser Hinsicht. Dabei spielt die Ernährung eine hervorragende Rolle, wie folgendes Beispiel zeigt. Züchtet man das genannte Acetobacter plicatum auf Wein, so bildet sich eine ziemlich durchscheinende, mäßig dicke Kahmhaut, in der die Zellen fest eingebettet sind. Beim Schütteln läßt sich dieselbe kaum in der Flüssigkeit verteilen. Ein daraus angefertigter Querschnitt zeigt nun bei stärkerer Vergrößerung eine sehr unregelmäßige Verteilung der Bakterien zwischen den Zoogloëamassen, wie es etwa der Figur 84 entspricht. Die Massen besitzen eine fädige Beschaffenheit und nehmen kaum Anilinfarbstoffe bei den gewöhnlichen Färbungsverfahren auf,



Fig. 84.

während darin die einzelnen Bakterien gut gefärbt werden. Wesentlich anders sieht ein Schnitt durch die Essighaut aus, die innerhalb von 12 Tagen auf alkoholfreiem Bier entsteht. In Figur 85 ist ein solcher etwas schematisiert bei etwa 200 facher Vergrößerung wiedergegeben. Wir sehen hier eine deutliche Schichtung. Die lichten faserigen Schichten entsprechen den zellenarmen verquollenen Gallertmassen, während die punktierten dunklen Bänder die zellenreichen Teile der Haut wiedergeben. Es scheint fast, als entständen die derben Häute auf alkoholfreiem Bier in der Weise, daß immer neue Schichten angelagert werden. Zuerst wird eine dünne Zoogloëa gebildet, die massenhaft Zellen enthält, welche in der Folge große Mengen Schleim absondern, dann kommt eine neue Zellenlage zur Entwicklung und wieder tritt die Gallertbildung auf und so fort. Wir hätten in dem Fall abwechselnd eine rege Vermehrung und darauffolgende Gallertentwicklung anzunehmen. Noch anders entstehen die Zoogloëen bei dieser Bakterienart auf Bier mit einem mäßigen 2—3 Proz. ausmachenden Alkoholgehalt. In diesem Falle werden zuerst kleine grauweiße Inselchen an der Oberfläche gebildet, die später von einer durchsichtigeren Gallertmasse verbunden und zusammengehalten werden. Infolgedessen hat die Kahmhaut in diesem Falle ein marmoriertes Aussehen. In Figur 86 ist eine Kultur in Bier mit einem Alkoholgehalt von 2½ Proz. abgebildet, wie sie sich bei 25 ° C in einigen Tagen entwickelt hat. Solche gefleckte und marmorierte Zoogloëen finden sich noch bei anderen Essigbakterien.

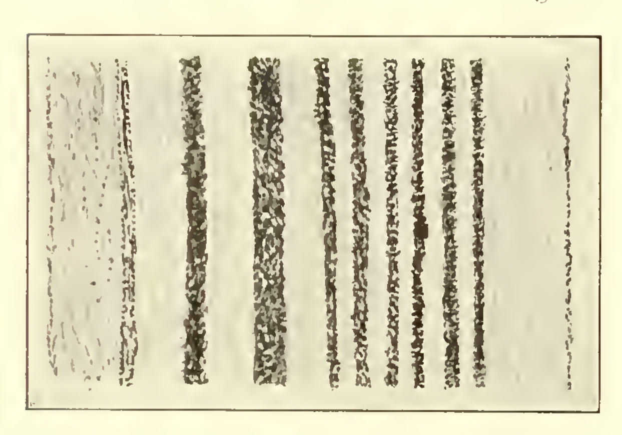


Fig. 85.



Fig. 86.

Nachdem zuerst durch Emil Christian Hansen drei verschiedene Essigbakterienarten bekannt geworden sind, wurden in der Folge von anderen Autoren noch viele andere gefunden. Besonders Henneberg verdanken wir eine genauere Kenntnis zahlreicher technisch wichtiger Essigbakterienarten.

Man teilt dieselben praktisch in 4 Gruppen ein: 1. Maische- oder Würzeessigbakterien; 2. Bieressigbakterien; 3. Weinessigbakterien und endlich 4. Schnellessigbakterien. Es stützt sich

diese Einteilung auf die natürlichen Standorte dieser Bakterien. Allerdings läßt sich die Trennung in diese Gruppen nicht vollkommen streng durchführen, doch genügt sie vollauf für die Praxis. Entsprechend der besonders guten Verwendbarkeit einiger Arten für die verschiedenen Betriebe kann man dieselben als „Kulturessigbakterien" den „wilden Essigbakterienarten" gegenüberstellen, die für die Praxis entweder wertlos oder aber schädlich sind.

In die große Schar der wilden Essigbakterien fallen alle jene, die im Essig einen schlechten Geschmack und Geruch erzeugen, oder nur wenig Essigsäure produzieren oder endlich im Essig Trübungen hervorrufen.

Die Essigbakterien verhalten sich in ihren Ernährungsansprüchen ebenfalls sehr verschieden. Am anspruchsvollsten in bezug auf die Stickstoffquellen sind die Bieressigbakterien. Henneberg untersuchte auch die Ernährungsbedingungen einiger Kultur-Schnellessig- und Weinessigbakterien eingehender, wobei es sich herausstellte, daß sich darüber kaum für alle Fälle zutreffende Angaben machen lassen, da in bezug auf die Ernährung oft ein scheinbar grundloser Wechsel in den Ansprüchen ein und derselben Art auftrat.

Nach Untersuchungen von Beijerinck genügte den Schnellessigbakterien Essigsäure allein als Kohlenstoffquelle, wenn ihnen Ammoniaksalze gleichzeitig als Stickstoffquelle zur Verfügung stehen. Nach Henneberg erweist sich für die Schellessigbakterien Bacterium Schützenbachi und Bacterium curvum günstig zur Entwicklung folgende anorganische Nährlösung:

Ammoniumphosphat . . .	0,2 g
Ammoniumsulfat	0,1 „
saures phosphorsaures Kalium	0,1 „
Magnesiumsulfat	0,1 „
destilliertes Wasser	100,0 ccm

wenn ihr als besondere Kohlenstoffquellen 6 Proz. Stärkesyrup und 3 Volumprozent Alkohol zugesetzt wurden.

War nun dieser Nährlösung von Haus aus 1 Proz. Essigsäure beigefügt, dann gedeiht darin das Bacterium curvum und die Weinessigbakterie Bacterium vini acetati gut, weniger gut die Weinessigbakterie Bacterium orleanense, während Bacterium Schützenbachi in diesem Falle überhaupt nicht zur Entwicklung gelangte.

Viel besser ausnützbare Stickstoffquellen sind die komplexen Polypeptide, die im Verein mit Dextrose und Alkohol als Kohlenstoffquelle für alle Arten eine ausgezeichnete Nahrung abgeben. Überhaupt befördert ein geringer, bis 4 Proz. betragender Alkoholgehalt des Nährsubstrates die Vermehrung ganz auffällig. Auch in den Essigmaischen, die gewöhnlich aus Lösungen von Stärkesyrup, Nährsalzen, Alkohol und Essig bestehen, findet nach Pepton- oder Fleischextraktzugaben ein ausgezeichnetes Wachstum statt. Daß man in der Praxis die Essigmaischen nur mit den oben genannten Bestandteilen ohne organische Stickstoffverbindungen herstellt und damit auch gut arbeitet, hat seinen Grund wohl darin, weil sowohl die Buchenholzspäne selbst einen genügenden Vorrat an organisch gebundenen Stickstoff enthalten als auch beim Ansatz des Bildners immer Beigaben von Malzauszügen oder Bier

und Hefewasser gemacht werden, wodurch ebenfalls lange ausreichende organische Stickstoffverbindungen hineingelangen.

Die Menge der produzierten Essigsäure ist bei den einzelnen Essigbakterienarten verschieden groß und scheint auch von äußeren Bedingungen, wie der herrschenden Temperatur, und von der Ernährung abängig zu sein. Bacterium industrium erzeugt im Maximum 2,7 Proz. Säure, Bacterium ascendens dagegen etwa 9 Proz. im besten Falle. In vielen Fällen findet eine Weiteroxydation der gebildeten Essigsäure zu Kohlendioyyd und Wasser statt, was besonders beim Mangel an Alkohol in der Gärflüssigkeit einzutreten pflegt. Auch die aërobe Essiggärung verläuft vielfach nicht frei von Nebenprodukten, denn außer dem Zwischenprodukt Azetaldehyd findet sich oft noch Bernsteinsäure.

Die Essiggärung selbst wird ebenfalls durch eine Reihe von äußeren Faktoren beeinflußt. Wohl alle Essigbakterien produzieren am besten Essigsäure aus Äthylalkohol, wenn sie etwas unter ihrem Temperaturoptimum gezüchtet werden. In diesem Sinne kann man von einem Temperaturoptimum der Essigbildung sprechen. Im direkten Sonnenlichte sistiert die Essiggärung fast immer. Auch die Vermehrung der Essigbakterien wird in diesem Falle zum Stillstand gebracht. Im zerstreuten Tageslicht verläuft die Essiggärung im allgemeinen sehr träge. Optimale Essiggärung beobachtet man im Dunkeln. Daß auch die ultravioletten Strahlen deletär auf die Essigbakterienoxydase wirken, kann nicht wundernehmen, da von den kurzwelligen Strahlen die meisten Enzyme schwer geschädigt werden. Auch elektrische Ströme sollen hindernd auf den Verlauf der Essiggärung einwirken. Dieselbe wird auch durch die sich anhäufenden Essigsäuremengen schließlich zum Stillstande gebracht.

Wir wollen uns nunmehr den genauer bekannt gewordenen Essigsäurebakterien selbst zuwenden und sie nach der Hennebergschen Einteilung kurz besprechen.

Zu den **Würze- oder Maischeessigbakterien** gehören alle jene Bakterienarten, die in Würze und Getreidemaischen auch ohne Alkohol Essigsäure zu bilden vermögen. In der Essigfabrikation spielen sie infolge ihres sehr geringen Säuerungsvermögens überhaupt keine Rolle. Sie sind in Hefefabriken, Brauereien und auch Brennereien häufig anzutreffen. Unter ihnen gibt es einige, die entschieden zu den Schädlingen dieser Betriebe gehören.

Zwei Arten sind hier vornehmlich zu nennen, Bacterium oxydans Henneberg und Bacterium industrium Henneberg.

Das Bacterium oxydans findet sich häufig in Flaschenbieren und konnte in solchen der verschiedensten Provenienz gezüchtet werden. Die dünne, nur wenig gallertige Zoogloëa dieser Art schiebt sich an den Glasrändern des Züchtungsgefäßes ziemlich hoch hinauf. In derselben liegen die Zellen etwas gedrängt und können schon durch leichtes Schütteln in der Flüssigkeit verteilt werden. Die einzelnen Zellen aus Bierkulturen sind groß und plump und messen im Mittel 1 μ in der Breite und 2,5 μ in der Länge. Bei niederen Züchtungstemperaturen um 25 ° C stellt sich schon in kurzer Zeit ein Schwärmzustand der Zellen ein. Sie sind dann lebhaft beweglich und trüben die ganze Flüssigkeit. Der Schwärmzustand dauert im allgemeinen bei den tieferen Temperaturen

bedeutend länger, wenn er auch etwas später erst einsetzt. Dann findet man auch Zellketten. In Figur 87 sind die typischen Wuchsformen dieser Bakterien bei ca. 2000facher Vergrößerung nach Henneberg abgebildet. In *a* sehen wir die jungen einzelnen oder höchst zu zweit vereinten Schwärmzellen aus einer Bierkultur, in *c* eine Zellkette. Wie alle Essigbakterien, neigt auch diese zur Bildung von hypertrophischen Wuchsformen, die besonders bei höherer Temperatur und auf Zusatz von größeren Alkoholmengen und gewissen Salzen ausgebildet werden, sich aber auch spontan in alten Kulturen einstellen. Für diese Art typisch sind die langen Ketten und Fadenverbände, wie sie in *b* der Figur 87 gezeichnet sind, die meist mehr in der Mitte an einem Gliede einen knopfartig angeschwollenen Seitenzweig tragen. Mitunter treten diese gestielten Knöpfe auch dort heraus, wo zwei Zellen aneinanderstoßen und die Scheidewand geschwunden ist, wie es die Riesenwuchsform in der Abbildung bei *b* unten zeigt.

Die Kardinalpunkte für die Temperatur beim Wachstum liegen um 8°, zwischen 18 und 20° und 30—33° C.

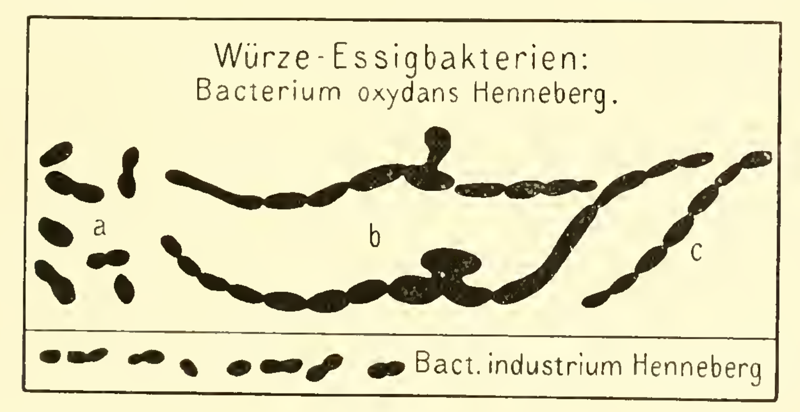


Fig. 87.

Bacterium oxydans säuert die verschiedensten Kohlehydrate und Alkohole, besonders aber Maltose; in Hefewasserkultur mit einem Gehalt von 8 Proz. Maltose findet üppige Vermehrung statt und die Säuremenge erreicht dabei 4,6 Proz.

Aus Alkohol bildet diese Bakterienart im besten Falle 2 Proz. Essigsäure, die sie aber nicht weiter verbrennt. Sie verträgt höchstens 7 Proz. Äthylalkohol in der Kultur.

Die zweite von Henneberg untersuchte Würzeessigbakterienart ist das Bacterium industrium, das sich wiederholt in Preßhefen und auch in Brauereiwürze fand. Es besitzt kleinere Zellen als Bacterium oxydans. In Figur 87 sind unten einzelne und in Teilung befindliche Zellen aus der Zoogloëa einer jungen Bierkultur nach Henneberg wiedergegeben. Die einzelnen Zellen messen meist 0,8—1,2 μ in der Breite und 1,6—1,8 μ in der Länge. Sie sind mehr rundlich und eiförmig.

Die von dieser Bakterienart auf Flüssigkeiten gebildeten Häute sind meist locker gefügt, dick und schleimig, sofern nicht Maltose oder

Glyzerin der Nährflüssigkeit zugesetzt sind. Dann werden sie fester und trockener. Wo die Haut an das Glas grenzt, entsteht ein festerer schleimiger Bakterienring. Diese Art neigt weniger zur Bildung der Riesenwuchsformen obwohl man sie durch dieselben Maßnahmen, wie bei der vorgenannten Art, herbeiführen kann. Es entstehen dann dünne lange, kugelig aufgetriebene Formen, die nur in den seltensten Fällen, sozusagen ausnahmsweise knopfartig verdickte Seitenzweige tragen.

Bacterium industrium besitzt ebenfalls ein kürzere oder längere Zeit andauerndes Schwärmstadium.

Für das Wachstum liegt das Temperaturoptimum bei 23°, das Minimum bei 8° und das Maximum um 35° C. Für die Essiggärung sind die Kardinalpunkte der Temperatur 10°, 21° und 28°. Wir sehen, daß das Optimum und Maximum hier etwas tiefer liegt als dasjenige des Wachstums.

Auch diese Bakterienart erzeugt aus zahlreichen Alkoholen und Kohlehydraten Säure, was ganz besonders für Maltose gilt, so daß auch das Bacterium industrium imstande ist, Bierwürze kräftig zu säuern. Eigenartig ist das Verhalten dieses Bakteriums zu Dextrinlösungen, die es verschleimt und fadenziehend macht und in eine Masse verwandelt, die durch Erwärmen bei 30° zur Erstarrung gebracht wird.

Unsere Bakterienart bildet aus Alkohol höchstens 2,7 Proz. Essigsäure, wobei stets als Nebenprodukt Azetaldehyd wahrzunehmen ist. Sie vermag aber Essigsäure nicht weiter zu oxydieren.

Zu den **Bieressigbakterien** können wir jene Essigbakterien rechnen, die sich als besonders widerstandsfähig gegenüber dem Hopfengift erweisen, Bier als natürlichen Standort besitzen und sich verhältnismäßig empfindlich gegen Essigsäure zeigen. Zu denselben gehört eine größere Anzahl von bekannt gewordenen Essigbakterien.

Bacterium aceti Hansen wurde von Hansen aus dänischem Bier reingezüchtet. Dasselbe wächst in den auf Bierkulturen entstehenden Häuten als kurzes, plumpes Stäbchen, das sehr regelmäßige Kettenverbände bildet. Bei der Zucht auf Würzegelatine sind die Zellen bedeutend größer und befinden sich weniger in Fadenverbänden. In der in Figur 88 gegebenen Zusammenstellung der Bieressigbakterien sehen wir in *a* einzelne Zellen des Bakterium aceti und kurze Ketten abgebildet, wie sie sich in der auf Bier entstehenden Zoogloëa einstellen, während *b* den Stäbchen auf Würzegelatine entspricht. Ein Schwärmstadium konnte bisher bei dieser Bakterienart nicht beobachtet werden. Bei der Zucht in höheren Temperaturen entstehen auch hier riesige Zellfäden und hypertrophische Wuchsformen mit birnenförmigen Auftreibungen und Verzweigungen.

In den Kahmhäuten sitzen die Zellen nun sehr fest, weshalb die Flüssigkeiten von dieser Art nicht getrübt werden. Die feuchten und mehr schleimigen Häute erscheinen oft marmoriert. Sie kriechen an den Wänden des Kulturgefäßes nicht in die Höhe.

Die Kardinalpunkte für die Wachstumstemperatur liegen bei 4, 34 und 42°C. Die Bakterienart verträgt in der Kultur viel Alkohol, bis 11 Vol. Proz. Sie bildet maximal 6,6 Proz. Essigsäure, von der sie einen Teil weiter zu oxydieren vermag.

Aus Leipziger Gose, einem obergärigen Bier, hat Henneberg das Bacterium acetosum Henneberg isoliert, dessen Wuchsgestalten in Figur 88 wiedergegeben sind. Die Stäbchen sind in jugendlichem Zu-

stande bei der Zucht in Gose in *a* gezeichnet. Sie liegen in der fest zusammenhängenden, an den Wänden des Zuchtgefäßes nur wenig emporkletternden, weißlichen und glatten Kahmhaut in Kettenverbänden. Bei der Zucht dieser Art auf Würzegelatine (*b* der Figur 88) oder in untergärigem Bier (*c* der Figur 88) sind Zellen meist etwas größer und gedrungener. Sie scheinen kein Schwärmstadium zu besitzen.

Das Temperaturoptimum für das Wachstum liegt um 25° C, das Minimum bei 8° C und das Maximum bei 36° C. Wie das Bacterium

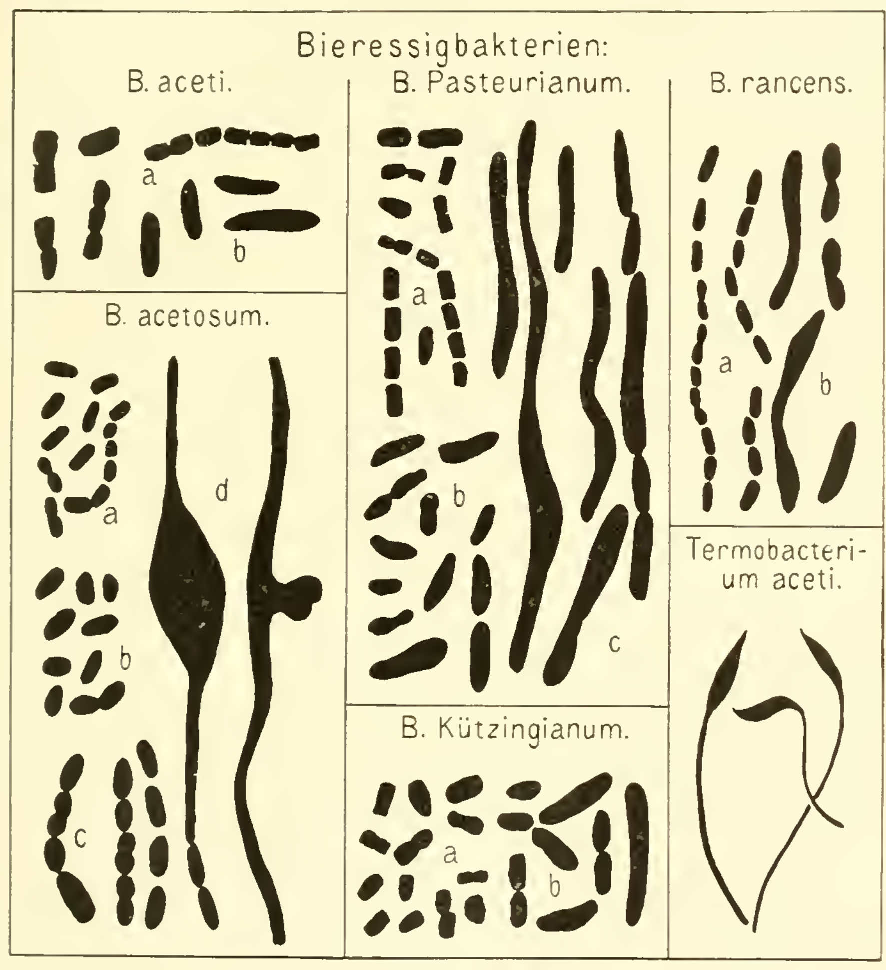


Fig. 88.

aceti verträgt auch diese Art 11 Vol.-Proz. Alkohol in der Kulturflüssigkeit und erzeugt im besten Falle 6,6 Proz. Essigsäure, von der kleine Mengen weiterverbrannt werden. Außerdem bildet sie Ester, weshalb der Essig einen aromatischen Geruch aufweist. Ihren guten Eigenschaften entsprechend dürfte sich diese Art für den Bieressigbetrieb eignen.

Hier ist dann zu nennen das von E. Chr. Hansen aus obergärigem dänischen Bier rein gezüchtete Bacterium Pasteurianum Hansen,

dessen Zellformen in Figur 88 wiedergegeben sind. Die Entstehung der Riesenwuchsformen (Figur 88 *c*) und ihre Umbildung in Kurzstäbchen haben wir schon früher kennen gelernt (vgl. S. 19). In der auf Bier entstehenden, ziemlich dicken, faltigen und marmoriert aussehenden Kahmhaut, sind die großen, gedrungenen Zellen in Ketten vereint (*a* Figur 88). Bei der Zucht auf Würzegelatine sind die Zellen größer und weniger regelmäßig gestaltet, wie es *b* der Figur 88 zeigt. Die Kahmhaut selbst ist festgefügt, weshalb die Flüssigkeiten vollständig klar bleiben.

Im allgemeinen besteht eine große Ähnlichkeit zwischen dieser Art und der vorgenannten; sie unterscheiden sich aber durch die Eigenschaft der verschleimten Zellwände des Bacterium Pasteurianum, sich bei der Behandlung mit Jodlösungen blau zu färben, was man bei Bacterium acetosum nicht beobachtet. Übrigens tritt diese Farbenreaktion nur dann auf, wenn man in Bier züchtet.

Für das Wachstum liegt das Temperaturoptimum bei 34°, das Maximum bei 42° und endlich das Minimum bei 5° C.

Bacterium Pasteurianum wächst noch bei einem Gehalte der Nährflüssigkeit von 9,5 Volumproz. Alkohol und vermag unter günstigen Bedingungen bis zu 6,2 Proz. Essigsäure zu erzeugen, von der nichts weiteroxydiert wird. Der mit dieser Bakterienart erzeugte Essig weist einen eigenartigen, scharfen Geruch auf, weshalb eine praktische Bedeutung derselben für die Essigfabrikation zweifelhaft ist.

Es wurden noch einige, dem Bacterium Pasteurianum sehr nahestehende Arten gefunden, die als Varietäten desselben angesehen werden können und sich von ihm oft nur durch die Ausbildung eines Schwärmstadiums oder den Mangel der genannten Jodreaktion unterscheiden.

Von Emil Christian Hansen wurde noch eine dritte Bieressigbakterienart, Bacterium Kützingianum Hansen, aus dänischem Bier reinkultiviert, deren Zellen klein und ohne Neigung zur Kettenbildung sind. In Figur 88 *a* sehen wir die einzelnen Bakterien aus einer jungen Bierkultur dargestellt. Auch bei ihnen färbt sich die verquollene Zellwand mit Jodlösungen blau. Wir finden bei dieser Art auch nur in geringem Grade die Eigenschaft der Bildung von hypertrophischen Zellformen, die hier in stark verlängerten, spindeligen Gestalten und stark vergrößerten Kugelbildungen bestehen. Die in Würzegelatine gezüchteten Zellen besitzen überhaupt größere Dimensionen (Figur 88 bei *b*).

Bacterium Kützingianum bildet auf alkoholischen flüssigen Nährsubstraten dünne, wenig zusammenhängende, etwas schleimige Kahmhäute, die bei schwachen Erschütterungen schon in kleine Bruchstücke zerfallen. An den Wänden des Kulturgefäßes ziehen sich die Zoogloëen hoch hinauf.

Unsere Bakterienart erträgt in der Kultur einen Alkoholgehalt von 9,5 Volumprozenten und vermag unter optimalen Bedingungen 6,7 Proz. Essigsäure zu bilden, die, wenn in geringer Menge anwesend, weiteroxydiert wird. Auch der von dieser Art erzeugte Essig besitzt einen scharfen, unangenehmen Geruch. Schon wegen der schlechten Hautbildung, die immer zu einem trüben Essig führt, eignet sich diese Essigbakterienart für den Betrieb nicht.

Das Bacterium rancens Beijerinck umfaßt einige Varietäten. Die typische Art desselben stammt aus obergärigem Bier und wird in

Holland bei der Bieressigerzeugung benutzt. Es handelt sich bei dieser Art um meist in Ketten vereinte Kurzstäbchen, wie es auch unsere Abbildung 88 in *a* aufweist. Bei der Zucht auf Würzegelatine entstehen größere Formen, entsprechend *b* der zitierten Figur. Die von dieser Art auf Bier erzeugte Kahmhaut ist faltig, trocken und sehr zusammenhängend, weshalb es zu keinen nennenswerten Trübungen der Flüssigkeiten kommt. Die einzelnen Varietäten bilden kräftig Essigsäure und verarbeiten sie zum Teil weiter.

Bei den Essigbakterien ist noch das Termobacterium aceti Zeidler zu nennen. Dasselbe stammt aus dem Bodensatz eines Flaschenbieres. Es bildet sehr zarte, hoch an den Wänden des Zuchtgefäßes emporsteigende Kahmhäute, die sich außerordentlich leicht durch leises Schütteln in der Flüssigkeit verteilen lassen. Deshalb und weil die Zellen überdies ein Schwärmstadium besitzen, treten in den flüssigen Nährsubstraten immer Trübungen auf. Die Art neigt zur Bildung abnormer Zellformen, wobei Fädenverbände mit aufgeschwollenen Enden entstehen, wie es auch in Figur 88 wiedergegeben ist. Es bildet von allen näher bekannten Bieressigbakterienarten am wenigsten Essigsäure (6 Proz.) und verträgt auch nur geringere Mengen Alkohol in den Nährsubstraten (9 Proz.).

Zu den **Weinessigbakterien** rechnet man nun jene Essigbakterienarten, welche sich meist spontan bei der Weinessiggärung einstellen. Sie alle sind dafür keinesfalls gleich gut brauchbar. Manche von ihnen müssen geradezu als Schädlinge bezeichnet werden. Man verlangt von ihnen ein großes Säuerungsvermögen und die Fähigkeit der Erzeugung von Bukettstoffen. Auch müssen sie gut zusammenhängende Kahmhäute erzeugen, damit Trübungen des fertigen Essigs nicht auftreten. Die wenigen Arten, die sich durch die genannten Eigenschaften auszeichnen, faßt man als „Kulturweinessigbakterien" zusammen und stellt sie den wertlosen und schädlichen „wilden Weinessigbakterien" gegenüber. Die oben aufgestellten Forderungen können aber nur für die bei den Orleansverfahren tätigen Essigbakterien aufrecht erhalten bleiben, wo es sich also um ruhig stehende Gärflüssigkeiten handelt. Die Essigbakterienflora in den Michaelischen Drehfässern und bei der Weinessigbereitung in Schnellessigbildnern muß den dort herrschenden Bedingungen entsprechend anders geartet sein. Hier finden wir aus diesem Grunde auch bei der Weinessiggärung Vertreter der später zu besprechenden Schnellessigbakterien tätig. Auch bei der spontanen Essiggärung von Obstwein und Wein im Hausbetriebe finden wir verschiedene Arten, die mitunter keineswegs allen Ansprüchen, die wir an Essigbakterien stellen, gerecht werden.

Die meisten Weinessigbakterien neigen nicht sehr zur Ausbildung hypertrophischer Wuchsformen. Diese Eigenschaft besitzt wohl im geringsten Grade das von Fuhrmann reingezüchtete Acetobacter plicatum.

Es seien nur kurz die besser untersuchten Weinessigbakterien hier gekennzeichnet.

Acetobacter plicatum Fuhrmann ist eine Bakterienart, die aus spontan sauer gewordenem Wein isoliert wurde und ihren natürlichen Standort anscheinend in der Presse und im Keller hatte, in dem derselbe gekeltert wurde. Es ist eine verhältnismäßig kleine Stäbchenbakterienart, die kein Schwärmstadium besitzt und auf verdünntem und unverdünntem Wein eine allerdings nicht sehr dicke, aber gut zusammen-

hängende und feste Haut bildet, in der die Zellen fest sitzen. Näheres über die Kahmhäute, deren Struktur und Entstehung, haben wir früher auf S. 267 erwähnt. Eine regelmäßige Anordnung der Zellen, zu Ketten

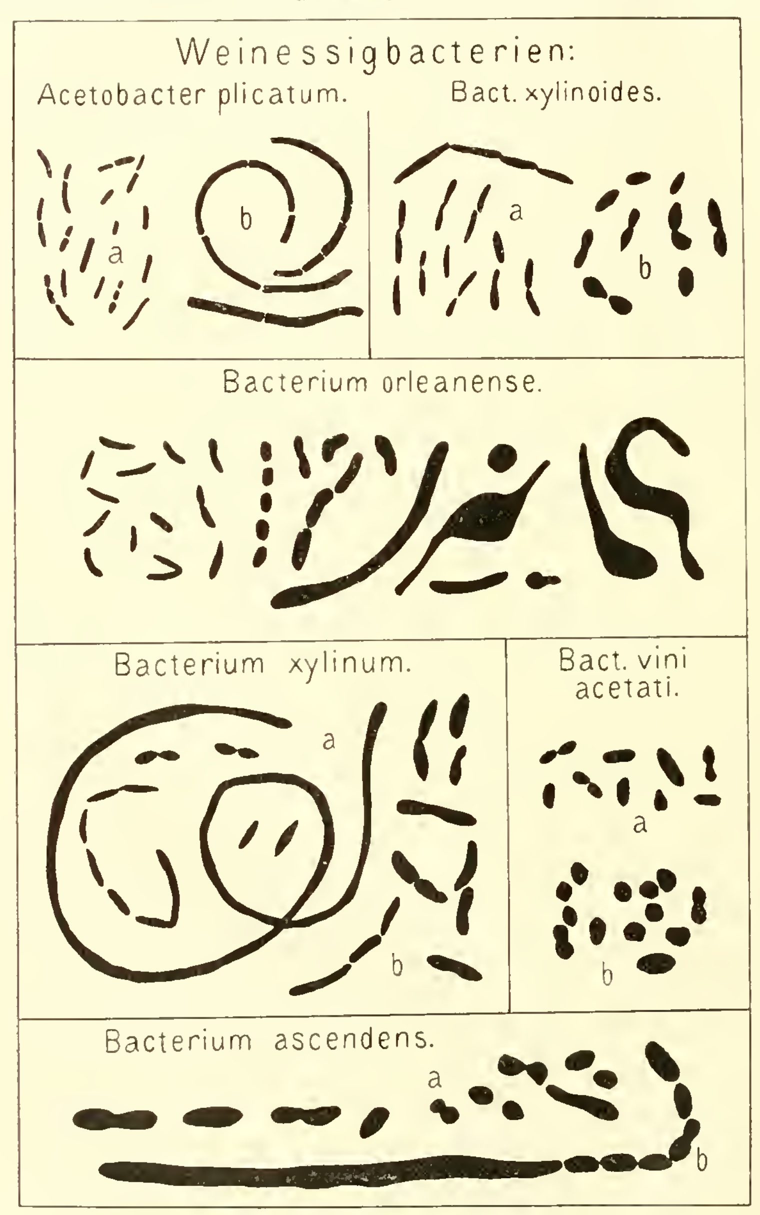


Fig. 89.

verbunden, finden wir darin nicht. In *a* der Figur 89, die eine Zusammenstellung der wichtigsten Weinessigbakterien bei 2000facher Vergrößerung enthält, sehen wir die einzelnen Zellen. Höhere Temperaturen

führen zur Bildung von ungegliederten und gegliederten, längeren Zellfäden, an denen Auftreibungen und Anschwellungen zu seltenen Befunden zählen. Dazu muß allerdings bemerkt werden, daß die Zellen im allgemeinen vergrößert sind. Figur 89 *b* zeigt solche vergrößerte und zu Fäden ausgewachsene Stäbchen.

Das Temperaturoptimum für das Wachstum in alkoholhaltigen Nährsubstraten liegt um 25°, das Maximum um 40° und das Minimum bei etwa 8°.

Die Bakterienart verträgt im Wein einen Alkoholgehalt von 10—11 Gewichtsproz. und erzeugt im Maximum 7,5 Proz. Essigsäure, von der nach längerer Zeit ein kleiner Teil weiteroxydiert wird.

Bacterium xylinoides Henneberg wurde aus dem Essig von zwei Fabriken in Berlin und in der Folge auch aus anderen Betrieben gezüchtet. Die Zellen dieser Art sind verschieden gestaltet, kürzer und länger, gestreckt oder leicht gekrümmt, und haben mehr zugespitzte oder auch runde Enden, wie es in *a* der Figur 89 zur Darstellung gebracht ist, wenn auf flüssigen, alkoholhältigen Nährsubstraten gezüchtet wird, z. B. Bier. In der Kultur auf Würzeagar sind die Stäbchen kürzer und dicker und mehr abgerundet, wie man aus *b* der Figur 89 ersieht. Schwärmzellen fehlen.

Auch die von Bacterium xylinoides auf Flüssigkeiten gebildeten Kahmhäute haben ein sehr verschiedenes Aussehen. Wenn sie dünn und trocken sind, spricht man von einer „Seidenpapierhaut". Sind sie dagegen mächtig, dick und zäh, so bezeichnet man sie als Lederhaut oder „Xylinumhaut", während die von dieser Art gebildete „Flockenhaut" aus einzelnen, weniger zusammenhängenden Inseln besteht und mehr schaumig, schleimig ist. Auf den Weinessigmaischen erzeugt diese Art meist die Seidenpapierhaut, die in älteren Stadien eine faltige Oberfläche aufweist. Die Xylinumhaut reagiert auf Jod- und Schwefelsäurezusatz mit Blaufärbung, wodurch aber nicht etwa für die Haut bewiesen ist, daß sie aus Zellulose besteht, was übrigens auch nicht der Fall ist.

Für die Zucht in unverdünnten Weinessigmaischen liegt das Temperaturoptimum um 26° C, das Maximum um 32° und das Minimum bei etwa 8°. Die größte Menge gebildeter Essigsäure war 8 Proz.

Aus einem Schnellessigbildner der Versuchsessigfabrik des Institutes für Gärungsgewerbe in Berlin isolierte Henneberg das Bacterium orleanense, das für die Weinessiggewinnung nach dem Orleanverfahren sehr brauchbar zu sein scheint. Die Zellen dieser Art sind denjenigen des Bacterium xylinoides sehr ähnlich, wie ein Vergleich in Figur 89 es sofort dartut. Dies gilt auch für die Zucht auf Würzeagar. In älteren Würzegelatinekulturen findet man große blasige, kugelige, kurz hypertrophische Formen, wie es Figur 89 rechts aufweist. Schwärmzellen konnten auch bei dieser Art nicht nachgewiesen werden.

Bacterium orleanense bildet auf Flüssigkeiten ebenfalls verschieden gestaltete Zoogloëen, die mitunter die Neigung zum Emporklettern an den Wänden des Züchtungsgefäßes aufweisen. Im allgemeinen werden aber Seidenpapierhäute erzeugt. Der Zusammenhang in denselben ist fest, so daß Trübungen des Essigs fast nie vorkommen. Ältere Häute sind zart gefaltet und machen den Eindruck von zusammengeknittertem Seidenpapier. Noch später sind sie etwas mehr durchfeuchtet

und dicker, weshalb sie ein schleimigeres Aussehen bekommen. In Weinkulturen beobachtet man meist auch eine rötlichbraune Färbung der Zoogloëen, die bei der Zucht in hellem Rotwein rosa ist.

Die bei dieser Art beobachtete größte Essigsäuremenge betrug 9,3 Proz.

Zu den Weinessigbakterien gehört auch das außerordentlich weit verbreitete Bacterium xylinum Brown, dessen Auftreten in Essigfabriken sehr unerwünscht ist. Die die Häute zusammensetzenden Zellen sind kürzere und längere, häufig etwas gekrümmte Stäbchen, die zahlreiche Fadenbildungen erzeugen und auch hypertrophische Formen aufweisen. In Figur 89*a* sind die Gestalten wiedergegeben, die sich gewöhnlich in den auf Bier entstehenden Kahmhäuten finden. Besonders charakteristisch für die Art sind die spiralig gewundenen, langen Fäden, an denen man meist keine Gliederung mehr wahrnimmt. Schwärmzellen scheinen vollkommen zu fehlen. Auf Würzegelatine gezüchtet, sind die Zellen ebenso unregelmäßig in bezug auf ihre Form, aber im allgemeinen vergrößert, wie es *b* der Figur 89 aufweist.

Bacterium xylinum ist auch durch seine derben, sehr schwer zerreißlichen Zoogloëen gekennzeichnet, die beim Entstehen auf Flüssigkeiten eine weiße, milchige Farbe zeigen und oft ungeheure Dimensionen annehmen, wie wir schon früher hörten. Auch sie geben mit Jod und Schwefelsäure meist, aber nicht immer, die Zellulosereaktion, werden dabei also blau gefärbt.

Diese Bakterienart ist für Alkohol ziemlich empfindlich, denn sie kann sich bei 7 Vol.-Proz. Gehalt nur mehr sehr spärlich entwickeln. Sie bildet auch wenig Säure und würde in dieser Hinsicht den Bieressigbakterien näher stehen, denn als Maximum an Essigsäure wurde 4,5 Proz. festgestellt. Sie oxydiert auch kräftig die gebildete Essigsäure weiter und erzeugt Nebenprodukte, durch die der Essig einen scharfen und angenehmen Geschmak und Geruch bekommt. Deshalb wird sie mit vollem Rechte als Schädling in der Essigfabrik und Essigindustrie gefürchtet.

Das Bacterium vini acetati Henneberg wurde von Henneberg aus einer größeren Berliner Weinessigfabrik gewonnen. Die Zellen desselben sind bei der Zucht in Bier klein und rundlich oder gestreckt, wie es aus *a* der Figur 89 zu entnehmen ist. Würzegelatinekulturen enthalten größere, mehr kugelige oder ovale Formen, wie *b* der genannten Abbildung zeigt. Auch hier fehlen Schwärmzustände unter allen Bedingungen.

Die von dieser Art hervorgebrachten Kahmhäute auf den Flüssigkeiten sind wenig zusammenhängend und von lockerem Gefüge, weshalb sich die Flüssigkeiten leicht trüben. Diese Trübungen verschwinden allerdings später vollkommen. Auf der Weinessigmaische entsteht eine dünne, feuchtglänzende Haut, von leicht bräunlicher Farbe, die sich im Alter dunkler bis schwarz färbt und einen festeren Zusammenhang erhält. Die festesten Häute werden auf verdünnter Weinessigmaische hervorgerufen, weshalb sich auch diese Art noch gut in der Weinessigfabrikation verwenden läßt.

Technisch vollkommen unbrauchbar ist aber das Bacterium ascendens Henneberg, dessen Fundort trüber Weinessig war, ob-

wohl es sehr gut säuert und große Alkoholmengen verträgt. Die größte Essigsäuremenge wurde mit 9 Proz. bestimmt.

Die Zellen desselben, die in Figur 89 abgebildet sind, haben eine ovale Gestalt und sind groß, wenn sie aus Häuten stammen, die auf Bier entstanden sind (*a*). Die Kulturen auf Würzegelatine enthalten neben den kurzen Formen noch dicke und lange Zellfäden, wie *b* der Figur 89 zeigt. Besonders in Hefewasserzuchten entstehen hypertrophische Zellgestalten, die Seitenäste mit langgestielten knopfförmigen Anschwellungen aufweisen. Schwärmer werden nicht gebildet.

Die von Bacterium ascendens auf Flüssigkeiten gebildeten Häute sind zart und durchaus gleich ohne besondere Struktur und klettern sehr hoch an den Gefäßwänden empor. Beim Schütteln zerfallen sie leicht und bilden dann nach dem Absetzen einen feinflockigen Bodensatz, während die feineren Teile derselben eine Trübung hervorrufen. Wegen dieser ungünstigen Hautbildung kann diese Art keine technische Verwendung finden, wie schon oben bemerkt wurde.

Die Gruppe der **Schnellessigbakterien** umfaßt Kulturrassen von Essigbakterien, die sich durch äußerst minimale Hautbildung auszeichnen und dabei ein sehr großes Säuerungsvermögen aufweisen. Mit ihnen sind ja die Buchenholzspäne der Schnellessigbildner reichlich besiedelt. Dort sitzen sie infolge sehr geringer Schleimbildung fest und füllen besonders die geöffneten Holzfasern aus. Von einem schleimigen Überzuge, der sich schon beim Betasten der Späne bemerkbar macht oder gar sichtbar ist, kann hier nicht die Rede sein. Bei der Zucht in Flüssigkeiten können sie allerdings nach längerer Zeit kleine Hautinselchen an der Oberfläche erzeugen, aber zu einer ausgesprochenen Hautbildung kommt es niemals. In bezug auf die Ernährung sind die Schnellessigbakterien sehr anspruchslos im Vergleich zu den anderen Essigbakterien. Es handelt sich hier wohl kaum um ursprüngliche Arten sondern vielmehr um besonders angepaßte Varietäten, weshalb wir auch oben von Rassen gesprochen haben. Im Laufe der Zeit sind dann diese durch fortdauernde Anpassung geschaffenen Eigenschaften in hohem Maße dauernd geworden.

Die Zahl der durch Henneberg bekannt gewordenen Schnellessigbakterien ist gering.

Als Typus dieser Bakterien kann das Bacterium Schützenbachi Henneberg gelten. Die Zellen desselben sind lang und schmal und meist etwas gekrümmt, wie es *a* der Figur 90 zeigt, wo solche aus einer alten Würzegelatinekultur abgebildet sind, während sie eine kurze gedrungene Form aufweisen, wenn sie unter natürlichen Verhältnissen auf den Buchenholzspänen im Schnellessigbildner sich entwickeln. In alten Würzegelatinekulturen treten auch zahlreich Kristalle von oxalsaurem Kalk auf. Größer und breiter sind die Formen in jungen Würzegelatinezuchten, was auch aus *b* der Fig. 90 zu entnehmen ist. Ein Schwärmstadium wurde bei dieser Bakterienart bisher nicht beobachtet.

Auf Nährflüssigkeiten kommt es bei Bacterium Schützenbachi nur zur Bildung sehr zarter, nicht fest zusammenhängender Häute. Meist entstehen zuerst kleine Inselchen, die dann zu einer locker verbundenen Haut verwachsen. Leise Erschütterungen bringen dieselbe schon zum Zerfall, wobei sie fast pulverig zu Boden sinkt.

Das Temperaturoptimum für das Wachstum liegt bei 25 bis 27,5° C, wenn zur Zucht Essigmaische verwendet wird. Bei der Zucht auf Würzegelatine liegt es um ungefähr zwei Grad höher.

In unverdünnter Essigmaische mit Zusätzen von Getreidemaische werden im Maximum nach 66 Tagen 10,9 Proz. Essigsäure gebildet. Beim Versuch im großen mit dieser Bakterienart unter Anwendung steriler Buchenspäne entstehen als größte Essigsäuremenge 11,5 Proz. Es ist dies allerdings weniger, als in Bildnern ohne Reinkultur entsteht, wo man durch geeignete Maßnahmen nach langsam größer werdenden Alkoholgaben 14—15 Proz. Säure erhalten kann. Warum die Reinkultur weniger säuert, ist noch nicht völlig klargestellt. Henneberg meint, daß durch die Sterilisation der Späne eine Verminderung der in ihnen vorhandenen Nährmaterialien herbeigeführt wird, woran gewiß zu denken ist. Außerdem

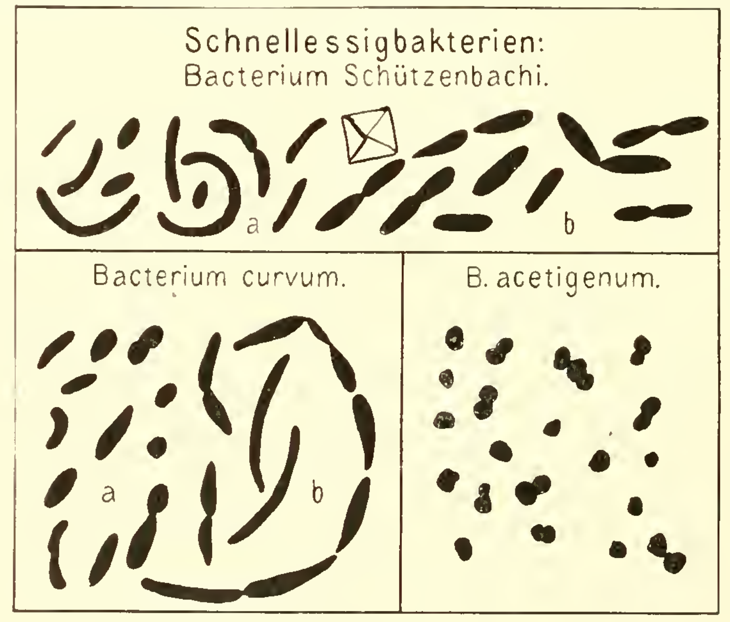


Fig. 90.

müßte noch die Tätigkeit von Begleitbakterien in Erwägung gezogen und untersucht werden, da es keineswegs ausgeschlossen ist, das letztere auf die Ernährung der Kulturschnellessigbakterien einen günstigen Einfluß ausüben.

Die zweite, typische Kulturschnellessigbakterie ist das Bacterium curvum Henneberg. Die Zellen derselben sind in flüssigen Nährsubstraten meist ein wenig gekrümmt und besitzen dementsprechend wegen den meist leicht zugespitzten Enden eine sichelförmige Gestalt. In Figur 90 *b* sind Formen gezeichnet, wie sie auf Würze mit Alkoholzusätzen entstehen. Hier sehen wir auch eine kurze Kette mit längeren und kürzeren Gliedern. Bei der Zucht auf Würzegelatine bilden sich neben normal gekrümmten Stäbchen auch zahlreiche kleinere, rundliche und unregelmäßige Formen aus, wie auf Figur 90 in *a* zu sehen ist. Auch dieser Bakterienart fehlt ein Schwärmstadium.

Bacterium curvum besitzt ein hohes Temperaturoptimum für sein Wachstum in Essigmaischen, wo es zwischen 25 und 36,5° C liegt.

Die von dieser Bakterienart auf Nährlösungen gebildeten Kahmhäute sind sehr zart und dünn, ohne jeglichen festeren Zusammenhang. Sie bestehen aus zahlreichen weißen Inseln, die beim Umschütteln an der Wand des Kulturgefäßes hängen bleiben. An der Berührungsstelle des Glases mit der Flüssigkeitsoberfläche kommt es zur Bildung eines Bakterienringes. Nur in Weinessigmaischen werden etwas zusammenhängendere Häute erzeugt, so daß eine Trübung derselben ausbleibt.

Die dritte Schnellessigbakterienart, die Henneberg aus einer Schnellessigfabrik in Halle erhielt, ist das Bacterium acetigenum Henneberg. Die Zellen dieser Art sind mehr oval oder rundlich und klein. Figur 90 zeigt dieselben aus einer auf Bier in zwei Tagen gebildeten Kahmhaut. Die Kurzstäbchen zeigen keine Neigung zur Kettenbildung. Auch die hypertrophischen Zellformen finden sich selten, wie bei allen Schnellessigbakterien. Bacterium acetigenum besitzt ein Schwärmstadium.

Die von dieser Art auf flüssigen Nährsubstraten, wie z. B. Bier, hervorgebrachten Zoogloëen sind mattglänzend und dünn, weisen aber einen festeren Zusammenhang auf, so daß beim Schütteln die ganze Haut untersinkt, ohne zu zerfallen. Sie zeigen übrigens große Verschiedenheiten in der Stärke und Konsistenz, die auf geänderte Ernährungsbedingungen zurückgehen. Henneberg bezeichnet die dünne, feste Haut als „Gaze- oder Schleierhaut“. Wenn trotzdem eine Trübung der Flüssigkeit zu beobachten ist, so ist dieselbe auf die Schwärmzellen dieser Art zurückzuführen.

Das Temperaturoptimum für die Essigsäurebildung liegt bei 33° C. Bacterium acetigenum erzeugt aber nur 3,5 Proz. Säure und daneben reichlich Bukettstoffe (Ester). Es findet auch eine ausgiebige Weiterverbrennung der Essigsäure zu Kohlendioxyd und Wasser statt. Wegen des geringen Säuerungsvermögens und der Weiteroxydation der gebildeten Essigsäure ist diese Art technisch nicht verwertbar.

Bei der Essigfabrikation wird im allgemeinen noch nicht mit Reinkulturen der Kulturessigbakterien gearbeitet, obwohl die Einführung derselben in den Betrieben große Vorteile mit sich bringen würde. Die Sicherheit des Betriebes in bezug auf die Gleichmäßigkeit des Produktes würde dadurch auch bedeutend gehoben. Dies gilt sowohl für die Weinessigerzeugung als auch für die Schnellessigfabrikation.

Wie schon früher angedeutet, sind die Weinessigbakterien in der Natur weit verbreitet und gelangen meist aus der Luft oder von Kellereigeräten in den Most und in den Wein. Sobald der Wein nicht gut verschlossen ist und zu demselben in nicht vollen Gebinden oder Flaschen die Luft genügenden Zutritt hat, entwickeln sich die gerade anwesenden Essigbakterien weiter und säuern ihn. Auch in den Weinessigfabriken arbeitet man heute meist mit zufällig sich einstellenden Bakterien, die durch Mischen des Weines mit fertigen Weinessig oder eben in Essiggärung befindlichen Weinessiggemischen eingeimpft werden. Diesem Infektionsmodus gegenüber bietet die Überimpfung durch Übertragung kleiner Hautteilchen gut arbeitender Essigbakterien in die neuangestellten Essigkufen auch keine nennenswerten Vorteile, da dadurch unliebsame Infektionen mit wilden Essigbakterien und anderen Essig verzehrenden Mikroorganismen auch nicht hintangehalten sind. Überdies kann nur durch die

Anwendung reinkultivierter Kulturessigbakterien in keimfreien Essigmaischen dem Übel der Essigälchen gesteuert werden, die sich sonst immer einstellen.

In den Schnellessigfabriken haben die Reinkulturmethoden bis jetzt kaum eine Beachtung gefunden, obwohl hier durch das Bacterium xylinum einerseits und durch die Essigälcheninfektion andererseits eine große Unsicherheit im Betriebe herrscht. Bacterium xylinum verlegt durch seine schleimigen Zoogloëen die Zwischenräume und Öffnungen zwischen den Spänen, verschließt die Auslaufsöffnungen und verdirbt mit den sich langsam einstellenden Verschleimungen den fertigen Spritessig. Bei der jetzt geübten Methode des Ansäuerns und gleichzeitigen Beimpfens mit ein und derselben Flüssigkeit gelangen immer wieder die Essigälchen in die neuaufgestellten Essigbildner und sind dann nicht mehr auszumerzen. Die Reinkulturmethode bietet aber auch den großen Vorteil, durch die Auswahl der richtigen Bakterienart bei dem Dreibildnersystem die besten Ergebnisse zu erhalten. Bei dieser Art der Schnellessigfabrikation kommt die Essigmaische zuerst in den A-Bildner, wo die ersten Säuremengen entstehen. Der noch wenig saure Essig wird nach neuerlichem Zusatz von Essigmaische auf einem zweiten Bildner (B-Bildner) gebracht und der nunmehr ablaufende, schon mehr gesäuerte Essig schließlich auf den C-Bildner gegeben, von dem der fertige, hochprozentige Essig abtropft.

Entsprechend der Oxydation ist die Temperatur in den einzelnen Ständern eine andere und auch die Menge der bereits vorhandenen Essigsäure. Da die Schnellessigbakterien in dieser Hinsicht Verschiedenheiten aufweisen, so wird nicht jede Art sich für jeden der drei Bildner gleich gut eignen. Hier könnten durch entsprechende Auswahl mit Hilfe der Reinkultur große Vorteile für den Betrieb herbeigeführt werden.

Übrigens lassen es die im großen durch Henneberg angestellten Versuche erwarten, daß endlich das Reinzuchtsystem sich auch in den Essigfabriken allmählich einbürgern wird, was für die Betriebe in jeder Hinsicht vorteilhaft wäre.

Literatur zur Vorlesung XXI.

Henneberg, W., Gärungsbakteriologisches Praktikum. Betriebsuntersuchungen und Pilzkunde. Berlin 1909.

Fuhrmann, F., Morphologisch-biologische Untersuchungen über ein neues Essigsäure bildendes Bakterium. Beihefte z. botan. Zentralbl., I. Abt., Bd. 19, 1905.

Hansen, E. Chr., „Gesammelte theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen.“ Herausgegeben von A. Klöcker. Jena 1911.

Zu den Textabbildungen 87—90 dienten neben eigenen Beobachtungen Zeichnungen von Henneberg und Hansen, die in den obengenannten Werken publiziert sind, als Unterlagen.

ZWEIUNDZWANZIGSTE VORLESUNG.

Bakterien bei der Zuckerfabrikation. Farbstoffgärungen. Schwefel- und Purpurbakterien.

Starke Verschleimungen von Preßsäften der Zuckerrüben und mit deren Bildung einhergehende Störungen kannte und fürchtete man schon lange. Dieselben können innerhalb kurzer Zeit große Mengen Saft unbrauchbar und wertlos machen und so in den Zuckerfabriken ausgedehnte Betriebsschädigungen herbeiführen. Dieselben gehen auf Spaltpilze, Kugel- und Stäbchenbakterien, zurück, die sich in den Säften entwickeln und dabei ungeheuere Schleimmassen erzeugen. Die an Nährstoffen reiche Zuckerrübe ist als zerquetschter Brei sowohl, als in Form von Schnitzeln ein ausgezeichneter Nährboden für zahlreiche Bakterienarten.

Am längsten bekannt ist in der Zuckerfabrikation der sog. „Froschlaich". Es sind dies laichähnliche, nuß- bis handgroße, lappige und oberflächlich höckerige Gebilde, die eine sehr durchscheinende Gallertmasse zusammensetzen. Dieselbe ist entweder farblos oder durch den Farbstoff der Rübe bläulich bis schwarz gefärbt. Diese Bildungen werden von einer Kugelbakterie, dem schon öfter genannten Leuconostoc mesenterioides oder besser Streptococcus mesenterioides hervorgebracht. Eine Abbildung desselben in seinen Schleimkapseln liegend, und ohne dieselben zeigt die Figur 14 auf S. 29, während auf S. 70 die chemische Beschaffenheit der Gallerte erwähnt ist. Es handelt sich um Kettenkugelbakterien, deren Durchmesser 0,8—1,2 μ beträgt, während die Gallertkapseln um die einzelnen Zellen oder Zellgruppen 6—20 μ messen. Wenn auch im Verlauf der Kette einzelne Zellen eine größere Form aufweisen, so sind diese vergrößerten Zellen doch keine Sporen oder überhaupt Dauerformen, wie wir schon früher hörten (vgl. S. 64). Die enormen Gallerthüllen werden nur in dextrose- und saccharosereichen Nährsubstraten ausgebildet, während dieselben bei der Zucht auf dextrose- und saccharosefreien Nährböden vollständig fehlen. Andere Zucker und Alkohole, wie Maltose und Laktose, dann Glyzerin und Mannit rufen die Schleimhüllenbildung ebensowenig hervor wie Dextrin, obwohl sie im übrigen als Kohlenstoffquellen brauchbar sind und von Streptococcus mesenterioides tatsächlich angegriffen werden. Dabei erzeugt er aus Maltose, Laktose und Dextrin geringe Mengen Milchsäure unter mäßiger Gasbildung.

Die Kardinalpunkte der Temperatur für die Vermehrung dieser Art sind 11—14°, 30—35° und 40—43° C. Die in ihren Schleimhüllen eingetrockneten Zellen ertragen höhere Erwärmungen, wie auf 100°, durch mehrere Minuten, sofern trockene Hitze zur Anwendung kommt, während feuchte Wärme sie schon bei 88° innerhalb derselben Zeit vernichtet.

Im Laufe der Zeit wurden in den Rübenzuckerbetrieben noch einige Arten von schleimbildenden Kugelbakterien rein gezüchtet und genauer untersucht, die dem genannten Streptococcus mesenterioides mehr oder weniger nahe stehen. Sie seien kurz erwähnt. Den Milchsäurekokken näher stehend als dem Froschlaichbazillus ist der schleimbildende Coccus I Schöne, der den Rübensaft unter Gasbildung säuert und darin einen ausgiebigen weißen Bodensatz hervorruft. An Säuren wurden gefunden: Vornehmlich Essigsäure, daneben Milchsäure und Bernsteinsäure. Es dürfte sich wahrscheinlich um eine Wasserstoffgärung des Zuckers handeln. Der Coccus II Schöne ist dem erstgenannten sehr ähnlich, macht aber den Rübensaft dickflüssig und trübt ihn. Auch hier beobachtete man die Bildung von Essig- und Milchsäure neben einem Gas.

Dann sind zwei Varietäten einer Art zu nennen, die allerdings als besondere Arten beschrieben wurden, Streptococcus Aller Zettnow und Streptococcus Opalanitza Zettnow. Sie bilden ihre Schleimhüllen nur bei der Gegenwart von Saccharose, während Dextrose die Gallertbildung nicht auszulösen vermag. Auch die Gallerthülle scheint eine andere Beschaffenheit aufzuweisen als beim Streptococcus mesenterioides, die in einer halbkonzentrierten, jodhaltigen Schwefelsäure gelöst wird, was bei derjenigen des Froschlaichbakteriums nicht der Fall ist. Die genannten Kettenkugelbakterien Zettnows vergären Zucker unter geringer Gasbildung und erzeugen dabei ebenfalls Milchsäure.

Hierher gehört auch der Myxococcus Betae Gonnermann, der in einer Rostocker Zuckerfabrik gefunden wurde. Die durch ihn gebildeten Gallertmassen hatten eine ähnliche Beschaffenheit, wie diejenigen des Streptococcus mesenterioides und bestanden aus sagoähnlichen Körnern von 2—5 mm Größe, die durchscheinend oder durchsichtig waren. In ihnen lagen meist kleine, scharfbegrenzte Hohlräume, die von einer dünnflüssigeren Gallerte erfüllt waren. In letzterer befanden sich die Kugelbakterien in Kettenverbänden. In künstlichen Zuchten kam es bei dieser Bakterienart nur dann zur Erzeugung größerer Gallertmassen und von Gasen, wenn im Nährsubstrat Saccharose zugegen war, während Dextrose diese Erscheinungen nur in geringem Grade hervorbringt.

Die bisher bei der Rübenzuckerfabrikation beschriebenen Gallert- und Schleimbildungen gehen auf Kugelbakterien zurück. Wir finden aber auch solche, die durch Stäbchenbakterien hervorgerufen werden. Es sind dies meist sporenbildende Bakterien, die in der Erde ihren natürlichen Standort haben, aus ihr auch gewonnen werden können und mit den Zuckerrüben aus derselben in die Säfte gelangen. Da sie sich durch große Resistenz ihrer Sporen auszeichnen, die selbst vielstündiges Kochen ertragen und Behandlungen mit mehrprozentiger Salzsäure oder Ätzkalkaufschwemmung selbst bei

höherer Temperatur aushalten, so steht es außer Zweifel, daß sie auch die Einwirkungen bei der Behandlung des Zuckersaftes bei der Scheidung und Saturation zu überleben vermögen. Im allgemeinen handelt es sich auch hier um Bakterienarten, deren physiologische Eigenschaften sehr variabel und vielseitig sind, die aber fast immer neben Gasgemengen Milchsäure und Essigsäure in wechselndem Mengenverhältnisse erzeugen und daneben auch andere Säuren in sehr geringer Menge produzieren, meist fakultativ anaërob sind und bei der Anwesenheit von Saccharose Schleim- oder Gallertbildungen im Nährsubstrat hervorrufen. Letztere Eigenschaft ist aber keineswegs als konstant zu betrachten, da sie bei künstlicher Zucht nicht lange erhalten bleibt und auch durch andere, mitunter noch sehr wenig gekannte äußere Bedingungen Änderungen erfährt. Diese Erscheinungen bringen die hier in Rede stehenden Bakterienarten, sofern es sich überhaupt um echte Arten handelt, zahlreichen Milchsäurebakterien sehr nahe. Sie führen entweder zu einer Verschleimung der Kulturen durch Überführung von Kohlehydraten im Schleim oder erzeugen auch kolossale Gallerthüllen, die auf umgewandelte und erweichte Membranteile zurückgehen. Außerdem säuern sie meist die Zuckersäfte durch die Bildung der oben genannten Säuren. Dabei vergären sie die Saccharose. Diese Gärungen sind keineswegs einheitlicher Natur. Es handelt sich dabei offenbar um mehrere hintereinander und nebeneinander verlaufende Einzelgärungen, von denen entsprechend den herrschenden Bedingungen, die eine oder andere besonders in den Vordergrund tritt. Wahrscheinlich spielen sich neben echten Schleimgärungen auch die Wasserstoffgärung, Milchsäuregärung und anaërobe Essigsäuregärung ab, unter besonderen Bedingungen auch die Alkoholgärung.

Von schleimbildenden Stäbchenbakterienarten sind vor allem die Vertreter der Gattung Semiclostridium zu erwähnen, die nach Maaßen durch vier Arten repräsentiert wird. Sie sind durch ihre Sporenbildung gekennzeichnet, bei der eine Formveränderung der Stäbchen in der Weise stattfindet, daß das Sporangium eine birnenförmige Gestalt aufweist. Die Spore selbst wird aber nicht in dem erweiterten Teile gebildet, sondern liegt im schmalen Abschnitte. Die Gestalt der Sporen ist ellipsoidisch. Sie messen im Mittel 1,75 μ in der Länge und 0,8 μ in der Breite. Die Sporenbildung unter Entstehen der genannten Formveränderung findet aber nur bei vermindertem Sauerstoffdruck statt und unterbleibt unter anaëroben Bedingungen vollends. Bei vollem Luftzutritt fehlt auch jede Formänderung. Die Keimung der Sporen erfolgt schräg zur Längsachse derselben in der Nähe eines Poles.

Die vegetativen Stäbchen sind lang und schmal und peritrich begeißelt. Durch höhere Temperaturen, die noch unter dem Maximum liegen, wird die Bildung langer und beweglicher Fäden ausgelöst.

Die Kardinalpunkte der Temperatur für das Wachstum liegen zwischen 18 und 56° C, das Optimum um 40°.

Von den vier Arten sei das Semiclostridium commune Maaßen näher behandelt. Es gedeiht sowohl auf sauren als auch alkalischen Nährsubstraten und kann die meisten komplizierten und einfachen Kohlenstoff- und Stickstoffquellen ausnützen. Beim Vorhandensein von Saccharose in den Nährlösungen kommt es besonders zur Ausbildung größerer Gallert-

massen, wie eine solche nach Maaßen in Figur 91 in natürlicher Größe abgebildet ist. Gegenüber den Zoogloeën des Froschlaichbakteriums besteht insofern ein Unterschied der Schleimmassen dieser Art, als hier kein innigerer Zusammenhang zwischen diesen und den Zellen selbst vorkommt. Außerdem ergibt die Gallerte des Semiclostridium commune bei der Hydrolyse Lävulose und steht insofern in ihrer chemischen Zusammensetzung dem Lävulan Lippmanns nahe. Bei der Zersetzung der Saccharose durch diese Bakterienart entsteht unter Gasbildung in geringer Menge Alkohol, Rechtsmilchsäure, Ameisensäure und Essigsäure.

Eine andere sporenbildende Bakterienart, die aus einer bei der Rübenzuckerfabrikation spontan aufgetretenen Verschleimung stammt, wurde von Poupê beschrieben. Es fand sich dieselbe im Dicksaft von 56° C und bildete darin einzelne Schleimflocken, die später zu einer dicken Haut anwuchsen. Bei Temperaturen des Dicksaftes von 70—75° C sistierte die Entwicklung, um später nach dem Herabgehen der Temperatur von neuem einzusetzen. Die Verschleimung ist hier auf eine Schleimgärung, also die Bildung schleimiger Spaltungsprodukte zurückzuführen.



Fig. 91.

Clostridium gelatinosum Laxa ist eine schleimbildende, sporenerzeugende Art, welche aus dem Schaume einer in Schaumgärung befindlichen Füllmasse isoliert worden war. Sie erzeugt auch wahrscheinlich Milchsäure und ist zur Einleitung mehrerer Gärungen anscheinend befähigt, denn sie lieferte beim Wachstum in zuckerhältiger, mineralischer Nährlösung etwas Alkohol und Milchsäure neben Spuren anderer flüchtiger Säuren unter Kohlensäureentbindung. Aus dem Schleim dieser Art konnte durch Hydrolyse Fruktose erhalten werden.

Neben diesen bekannteren Sporenbildnern tritt als Schleimbildner bei der Rübenzuckerfabrikation auch eine Reihe nicht Sporen erzeugender Stäbchenbakterien auf. Hier ist zu nennen das Bacterium pediculatum Koch und Hosaeus, das sich in einem Sirup für zweites Produkt ansiedelte. Näheres über die Art ist nicht bekannt, da sie nicht reingezüchtet werden konnte. Auffallend an ihr ist die einseitige Ausbildung der Gallertmassen, so daß die Bakterien wie auf Stielen sitzend aussehen.

Eine andere nicht sporulierende Schleimbildnerart ist der Bacillus viscosus sacchari Kramer, der den Zuckerrübensaft schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur total verschleimt. Hier handelt es sich um eine schleimige Mannitgärung. Bei derselben entsteht aus der Saccharose neben dem schleimigen gummiartigen Stoff Mannit und Kohlendioxyd und Wasser. Der Vorgang verläuft wahrscheinlich nach der Gleichung:

$$25\,C_6H_{12}O_6 = \underset{\text{Gummi}}{12\,C_6H_{10}O_5} + \underset{\text{Mannit}}{12\,C_6H_{14}O_6} + 6\,CO_2 + 6\,H_2O$$

Das Bacterium gelatinosum betae Glaser erzeugt auf Rübensaft unter schwacher Gasbildung innerhalb kurzer Zeit eine Decke von klumpigen Gallertmassen, wenn Temperaturen von 40—45° C herrschen. Diese Stäbchenbakterienart bildet anscheinend keine Sporen. Sie ist lebhaft beweglich. Die von ihr erzeugte Gallerte steht dem Dextran Scheiblers sehr nahe.

Schöne beschrieb eine ebenfalls nicht sporenbildende Kurzstäbchenbakterienart, die er auf frischen Rübenschnitzeln und auch in einem Diffusionssaft fand. Sie bewirkt eine kräftige Säuerung und Trübung unter späterer Bodensatzbildung. Bei den durch sie hervorgebrachten Zersetzungen entstehen unter Gasbildung Linksmilchsäure, Essigsäure und geringe Mengen von Alkohol.

Der Bakteriengehalt der Säfte der Rübenzuckerfabrikation ist trotz der Einführung neuer Diffusionsmethoden, die die Anwendung großer Hitze verlangen, dennoch in allen Stadien der Herstellung ein verhältnismäßig großer, da im Laufe der Gewinnung des konzentrierten, reinen Saftes aus dem trüben Rohsaft zahlreiche Infektionsmöglichkeiten vorliegen, wenn auch von den Rübenschnitzeln her nicht allzuviele Bakterien mitgenommen werden. Es sei kurz an den Hergang des modernen Rübenzuckergewinnungsbetriebes erinnert. Der von dem Brühverfahren gewonnene Rohsaft aus den Rübenschnitzeln wird mit Druckluft in heißem Zustande (75—78° C) aus der Diffusionsbatterie in das Meßgefäß getrieben, wobei er den zwischengelegten Pülpenfänger passiert. Wird letzterer nicht genügend heiß gehalten, so kann von hier aus eine ausgiebige Infektion mit Schleimbildnern erfolgen. Aus dem Meßgefäße kommt der Saft über den Vorwärmer in die Scheidepfanne, wo eine Neutralisierung desselben und Abscheidung der Nichtzuckerstoffe durch Zusatz von Ätzkalk und Erhitzung auf 90° C erreicht wird. Jetzt wird der Saft saturiert. Bei der Saturation wird Kohlensäure und ein wenig schweflige Säure eingeblasen und bis zum Kochen erhitzt. Die Scheidung und Saturation werden demnach nur die allerwiderstandsfähigsten Sporen gewisser Bakterienarten, wie beispielsweise die vorgenannten Semiclostridien, ertragen und überleben. Solche wurden tatsächlich auch darnach gefunden. Aus dem Saturator kommt der Saft in die Schlammpresse, wo ebenfalls eine starke Vermehrung der noch vorhandenen Sporen und neu hinzugetretenen Bakterien dann erfolgen kann, wenn die Filter schlecht funktionieren und der Inhalt zu langsam durchgeht, weil dann die Temperatur meist unter 60° absinkt. Trotz mehrmaliger Saturation und Filtrierung ist der ablaufende Saft dennoch nicht keimfrei, denn die Sporen der hier vorkommenden Bakterienarten, deren Hauptmenge aus Vertretern der Subtilis- und Mesenterikusgruppe besteht, überdauern samt und sonders die bei der Saturation herrschenden hohen Temperaturen. Gewöhnlich wiederholt man die Saturation dreimal, worauf der ablaufende Dünnsaft noch einer besonderen Filtration in Kies- oder Beutelfiltern unterworfen wird, wobei wieder reichliche Gelegenheit zu neuen Infektionen von außen her besteht. Der Dünnsaft kommt nun in die Verdampfungskörper, von denen der erste die höchste, meist ein wenig 100° überschreitende Temperatur aufweist, während der dritte und letzte nur auf etwa 70—75° erwärmt wird. Die Sporen der Semiclostridien und auch der zuvor genannten Bakteriengruppen werden zum großen Teil auch diese Hitzeeinflüsse überdauern. Der in den Verdampfkörpern entstandene Dicksaft geht nunmehr durch die heißgehaltenen Dicksaftfilter, wo ebenfalls eine Zunahme der Bakterien eintreten kann, von denen aber sehr viele im Filter zurückgehalten werden, so daß der klare Dicksaft doch als verhältnismäßig keimarm bezeichnet werden darf. Immerhin finden sich darin meist wieder diejenigen Arten, bzw. deren Sporen, welche Verschleimungen und Säuerungen

des Saftes hervorzubringen vermögen. Das nun folgende Verkochen des klaren, glänzenden Dicksaftes erfolgt im Vakuumkörper zur sog. Füllmasse. Wegen des hier herrschenden, verminderten Druckes braucht man zum weiteren Eindicken des Saftes keine hohen Temperaturen anzuwenden, weshalb dieselben hier wohl immer viel unter 100° liegen. Eine Entkeimung und Befreiung des Saftes von lebenden Sporen findet also auch im Vakuumkörper nicht statt, weshalb die frisch bereitete Füllmasse auch jederzeit zahlreiche Bakterien und deren Sporen enthält. Die etwa 90 Proz. Zucker enthaltende Füllmasse wird auf 45—50° abgekühlt und geschleudert, wobei sich der Rohzucker von etwa 95 Proz. Saccharosegehalt von dem Sirup scheidet. Letzterer wird neuerlich verkocht und in ein zuckerhältigeres Nachprodukt und Melasse durch Kristallisation bei 40° geschieden. Mit der Melasse verfährt man weiter in derselben Weise, indem man das Verkochen und Trennen durch Kristallisation einige Male wiederholt, bis schließlich ein an Salzen und Nichtzucker reicher Rest übrig bleibt, der durch verschiedene Methoden auf Zucker noch weiter verarbeitet wird.

In den Füllmassen und auch den Melassen beobachtet man nun häufig lebhafte Gasbildung und Aufgehen von Schaum an der Oberfläche derselben. Die Gasblasen enthalten dabei vornehmlich Stickoxyd, das auf eine Zersetzung des in den Massen vorhandenen Salpeters zurückgeht, weshalb man diese Art von Schaumgärung als **Salpetergärung** bezeichnet. Im wesentlichen handelt es sich dabei um eine durch Bakterien hervorgerufene indirekte Denitrifikation, die wir bereits kennen gelernt haben (vgl. S. 173). Dabei ist aber nicht zu vergessen, daß dieselben Erscheinungen der Entbindung von Stickoxyd ihre Ursache auch in rein chemischen Vorgängen haben können, was gewiß auch in vielen Fällen geschehen wird.

Die durch Schaumbildungen in der Füllmasse, in den Sirupen und auch Melassen sich verratende Schaumgärung kann auch noch auf andere mikrobielle Zersetzungen zurückgehen, die Lafar mit Recht als **Amidgärung** bezeichnet hat. Die Füllmassen, und in weitaus größerem Maße die Melassen und Sirupe sind reich an verschiedenen Aminosäuren, die entweder, wie Asparaginsäuren und andere, schon vom Rübensaft stammen oder bei der Saturation, beim Verdampfen und Verkochen aus den vorhandenen Proteïnen durch die Einwirkung des Kalkes, der schwefeligen Säure und Kohlensäure bei den in Anwendung kommenden hohen Temperaturen entstehen. Zahlreiche Amide ergeben bei ihrer Zersetzung reichliche Kohlendioxydmengen, die eben auch bei dieser Art von Schaumgärung beobachtet wurden. Bei letzterer werden aber sicherlich auch eine Reihe anderer organischer Nichtzuckerstoffe vergoren, wie organische Säuren und die zahlreichen anderen stickstoffhältigen organischen Verbindungen, die in großer Zahl im Rübensaft nachgewiesen worden sind. Die in den Füllmassen herrschende, relativ hohe Temperatur ist nun kein Hindernis, auch in diesen Vorgängen bakterielle Zersetzungen zu erblicken, da man ja auch aus in Schaumgärung geratenen Füllmassen einerseits thermophile und thermogene Bakterien gezüchtet hat und andererseits durch entsprechende Desinfektionsmittel, wie Formaldehyd, diese Gärungen auch unterdrücken konnte, was gewiß für die mikrobielle Natur spricht. Von einigen Seiten wurde allerdings der rein chemischen Natur dieser unter

Kohlendioxydbildung ablaufenden Zersetzungen, die auch den Zucker betreffen, das Wort geredet. Gegen diese Auffassung spricht auch der Umstand, daß die in der Tiefe auftretenden und die Füllmasse emporhebenden Gasmengen zu Beginn der Amidgärung gering sind, dann zunehmen und sich auf einer beträchtlichen Höhe halten, obgleich zuerst eine mitunter sehr große Temperatursteigerung zu beobachten ist, der dann ein spontaner Temperaturabfall folgt. Die Gasbildung hört meist erst dann auf, wenn in den Füllmassen die Temperatur unter 45° C gesunken ist. Wie schon oben angedeutet, scheint es sich bei dieser Gärung um thermophile und thermogene Bakterienarten zu handeln, auf die nicht nur die Zersetzungen, sondern auch die Temperatursteigerung zurückgehen. Es ist auch sehr wahrscheinlich, daß bei diesen als besondere Schaumgärung bekannten Umsetzungen eine Fülle von Vorgängen sich abspielt, in die wir im einzelnen noch gar keinen Einblick haben und für die sicherlich eine Reihe von hintereinander und nebeneinander tätigen Bakterienarten verantwortlich gemacht werden muß. Außerdem werden sich gewiß auch rein chemische Vorgänge abspielen können, bei denen aber nur verhältnismäßig geringe Gasmengen entstehen dürften, wie wir sie bei der Bildung der spontan auftretenden schaumigen Decke auf Füllmassen beobachten können.

Sowohl bei der Lagerung des Rohzuckers als auch in der Raffinade desselben treten nicht allzuselten Zersetzungen desselben auf, die das Produkt minderwertig machen und hauptsächlich zur Bildung von größeren und geringeren Mengen von Invertzucker führen. Bekanntlich wird der Rohzucker unmittelbar nach der Gewinnung im sog. Zuckerboden gelagert, wo er sich in großen Haufen zusammengeschichtet befindet. In diesen Haufen kann nun eine nicht unbeträchtliche Selbsterhitzung oder eine spontane Durchfeuchtung eintreten. Die Bildung des Invertzuckers geht wohl meist auf Bakterienvegetationen zurück. Bakterien finden sich in den Rohzuckerhaufen in nicht unerheblichen Mengen und viele Arten derselben vermögen kräftig Invertase zu bilden, die dann die Inversion der Saccharose herbeiführt. Außerdem können sich auch hier bei genügender Feuchtigkeit andere Gärungen einstellen, die durch ihre Spaltungsprodukte zu einem Umschlagen der Reaktion führen.

Auch die Raffinade ist durch Bakterien noch sehr gefährdet. Das Feuchtwerden derselben geht sicherlich auf diese Organismen zurück. Dabei tritt ebenfalls eine kräftige Inversion der Saccharose auf. Das Feuchtwerden der Raffinade zeigt sich in der Weise, daß die zuvor in den Trockenstuben vollkommen trocken gewordene Raffinade an der freien Luft Wasser anzieht und einen immer größer werdenden Feuchtigkeitsgrad aufweist, wobei sie in der Folge eine bröckliche Beschaffenheit annimmt und schließlich vollständig zerfällt. Diese Massen enthalten dann reichlich Invertzucker. Die Invertzuckerbildung kann auch in den Raffineriemelassen auftreten.

Eine gewiß andere Bakterienflora werden wir in den aus dem **Zuckerrohr** gewonnenen Säften zu gewärtigen haben. Abgesehen davon, daß hier eine ganz andere Technik der Herstellung geübt wird, ist auch das Ausgangsmaterial anders. Von der Zuckerrohrpflanze wird nur der oberirdische Teil zur Zuckergewinnung benutzt. Die tiefgehenden, erdigen Verunreinigungen sind hier im Verhältnis zu jenen, die an der

Zuckerrübe vorliegen, gewiß als sehr gering zu bezeichnen, wenn auch zahlreiche pilzliche Schädlinge sich an demselben festsetzen und mitunter Erkrankungen der Zuckerrohrpflanze herbeiführen, die von den Plantagenbesitzern mit Recht gefürchtet sind. Sie sind für unsere Darstellung so lange nebensächlich, als sie die stehende Pflanze befallen und zugrunde richten, und deren Erreger nicht auch dem aus gesundem Zuckerrohr erzeugten Safte gefährlich werden. Dies ist aber noch für keinen Fall sicher nachgewiesen, wie überhaupt die Mykologie des Rohrzuckersaftes noch wenig und teilweise gar nicht erforscht ist. Wir kennen auch die Bakterienflora der Oberfläche des Zuckerrohres noch nicht. Darüber liegen eingehende Untersuchungen nicht vor. Wenn auch wahrscheinlich die Bakterienzahl auf dem Zuckerrohre bei der Ernte verhältnismäßig gering sein wird, so bietet doch dafür die weitere Verarbeitung und der Saftherstellungsbetrieb reichliche Gelegenheit zu ausgiebigen Infektionen, da vor allem keine hohen Temperaturen zur Anwendung kommen.

Bei der Gewinnung des Zuckerrohrsaftes werden die Stengel meist in besonderen Rohrmühlen bei gewöhnlicher Temperatur ausgequetscht. Der saure Zellsaft wird dann mit einer verhältnismäßig geringen Menge Kalkmilch zur Scheidung versetzt, denn der Zusatz ist so bemessen, daß in dem Rohsaft nur eine schwach alkalische Reaktion entsteht. Bezüglich des Bakteriengehaltes wissen wir nur, daß nicht nur der Rohsaft vor dem Kalkzusatz sehr keimreich ist, sondern auch der Dünnsaft nach der Scheidung, der Dicksaft und die Füllmasse gewiß nicht als keimfrei zu bezeichnen sind.

Man hat nun in einigen Fällen der Zuckerrohrverarbeitung ebenfalls Schleimbildner nachgewiesen, die hier kurz gekennzeichnet seien.

In einer javanischen Zuckerfabrik beobachtete man das Auftreten von massenhaften Zoogloëenmassen in den Saftgefäßen, Rohrleitungen und Pumpen, die sich auch in allerdings weit geringerer Menge schon in den Rohrmühlen zeigten. In einem Falle soll ein halber Kubikmeter Schleimmasse innerhalb weniger Stunden entstanden sein. Nach Winter war der Erreger dieser kolossalen Verschleimungen eine dem Streptococcus mesenterioides sehr nahestehende Kugelbakterienart, die wohl als Varietät unserer einheimischen Art aufzufassen ist und nur ein höheres bei 37° C liegendes Temperaturoptimum für das Wachstum aufweist. Übrigens dürfte das Froschlaichbakterium wohl auch in den Rohrzuckersäften am häufigsten die gefürchteten Verschleimungen und Gallertbildungen verursachen, denn auch in Lousiana in Nordamerika beobachtete man häufig das Auftreten dieser Art bei den Gallertbildungen der Rohrsäfte in den Zuckerfabriken.

Außer den genannten Streptokokkeninfektionen können in den Rohrzuckersäften auch gewiß Vertreter der Gruppe Bacillus mesentericus zu ausgiebigeren Verschleimungen Veranlassung geben, wie aus einem von Smith beobachteten Fall zu entnehmen ist. Dabei handelte es sich um eine Stäbchenbakterienart, dem Bacillus levaniformans Smith, der aus einem verschleimten Rohrsaft stammt. Er wächst in Form gutbeweglicher, aërober, sporenbildender Stäbchen verschiedener Abmessung, invertiert kräftig Saccharose und verflüssigt Gelatine. Die Schleimbildung zeigt sich nur bei der Gegenwart von Saccharose im Nährsubstrat und wird durch gleichzeitig vorhandenes Pepton wesentlich gefördert, während bei der Darreichung von Dextrose, Lävulose,

Maltose, Laktose und Stärke als besondere Kohlenstoffquelle kein Schleim erzeugt wird. Der das polarisierte Licht links drehende Schleim scheint durch Zerfließen der von der Zellwand stammenden Gallertkapseln zu entstehen. Bei der Hydrolyse liefert er Lävulose, weshalb seine Substanz als Levan bezeichnet wurde. Außer dieser Schleimbildung bewirkt diese Bakterienart noch eine Reihe anderer Zersetzungen, wie aus dem Auftreten von Milchsäure, Buttersäure, Ameisensäure und Kaprinsäure neben Kohlendioxyd als Gärprodukte geschlossen werden muß.

Der aus dem Zuckerrohr gewonnene Rohzucker kann ähnliche Veränderungen erleiden, wie wir sie für den Rübenrohzucker kennen gelernt haben. Auch hier sinkt mitunter der Saccharosegehalt und es entsteht Invertzucker. Wahrscheinlich sind dabei Mikroorganismen im Spiele, da der Prozeß durch Feuchtigkeit und Wärme sehr gefördert wird und durch Anwendung von Desinfektionsmitteln eingeschränkt und unterdrückt werden kann. In vielen Fällen werden hier sicher auch Schimmelpilze und Hefen am Zerstörungswerk tätig sein, wie einige Untersuchungen ergeben haben.

Eine große Bedeutung besitzen heute noch die sog. **Farbstoffgärungen**, mit deren Hilfe eine Reihe von pflanzlichen Farbstoffen gewonnen wird. Die Muttersubstanzen derselben sind meist in den betreffenden Pflanzen entstandene Glykoside, die bei der Farbstoffbildung außerhalb der Pflanze einer enzymatischen Glykosidspaltung anheimfallen. In erster Linie ist hier die **Indigogärung** zu nennen.

Bekanntlich gewinnt man den Indigo aus den Blättern der Indigopflanzen, Indigofera-Arten, die denselben aber keineswegs in fertig gebildeter Form enthalten. Sie führen nur das Glykosid Indikan, das aus denselben extrahiert wird. In Java bringt man zu diesem Ende die vor der Blüte geschnittenen Pflanzen in den Extraktionsbehälter, in dem dieselben vollständig mit Wasser bedeckt werden. Aus den rasch absterbenden Pflanzen tritt dann das Indikan aus und färbt die Flüssigkeit gelb, die dann eine alkalische Reaktion aufweist und einen blauvioletten Schaum an der Oberfläche trägt. Bei der Extraktion tritt die Indigogärung auf. Dabei wird nach den neueren Untersuchungen das Indikan in Zucker und Indoxyl durch besondere Enzyme gespalten. Dieselben entstehen ebenfalls in der Pflanze und gehen bei der Auslaugung derselben mit in Lösung. Es sind die Indoxylasen Beijerincks, die bei den einzelnen Indigopflanzen verschiedener Natur sein sollen. Nach etwa 8—10 Stunden kommt die Extraktionsflüssigkeit in einen anderen Behälter, wo die Oxydation des Indoxyls zu Indigotin, dem Indigoblau, vollzogen wird. Um die Flüssigkeit dabei fortwährend mit genügenden Mengen von Sauerstoff zu versehen, wird dieselbe in den Oxydationsbassins durch Schaufelräder und Schlagen in ständiger Bewegung erhalten. Das unlösliche Indigoblau wird nunmehr gesammelt, gereinigt, in Würfelform gepreßt und so getrocknet. Bei der Oxydation des Indoxyls zu Indigoblau dürften trotz gegenteiliger Behauptungen Oxydasen kaum eine nennenswerte Rolle spielen.

Zahlreichen Bakterienarten, die sich in den Extraktionsbehältern ständig ansiedeln, wurde früher eine Hauptbeteiligung bei der Indigogärung zuerkannt, da sie tatsächlich Glykoside spaltende Enzyme enthalten und auch imstande sind, die Indikanspaltung herbeizuführen. Die neuen Untersuchungen haben aber ergeben, daß sie bei der Indigogärung wohl mehr als zufällige Begleitorganismen auftreten, ohne für den Gang des Betriebes wesentlich zu sein. Dies erhellt schon daraus, daß man jetzt vielfach bei der Extraktion zur rascheren Tötung der Pflanze auf 50° erwärmtes Wasser verwendet, wodurch die früher als notwendig angesehenen Bakterienarten ausgeschaltet werden. Übrigens pflegt man bei der Indigogewinnung jetzt sehr reinlich zu verfahren und greift dabei zu ausgiebiger Verwendung von Desinfektionsmitteln, wie Karbolsäure, mit denen man nach jedem Gebrauch die Behälter und Geräte behandelt, um Bakteriengärungen nach Möglichkeit fernzuhalten. Dieselben scheinen hier vielmehr als mitunter sehr schädliche Nebenvorgänge aufzutreten, die des öfteren eine Reihe von andersgearteten Zersetzungen herbeiführen, die die Indigobildung vereiteln.

Außer den Indigo liefernden Leguminosen kommen für die Gewinnung dieses blauen Farbstoffes noch andere Pflanzen in Betracht, wie vornehmlich der Waid, Isatis tinctoria, die zu den Cruciferen gehören. Heute spielt die Waidgewinnung und dessen Anbau kaum mehr eine Rolle, da er vom künstlichen und dem Indigofera-Indigo sozusagen vollständig verdrängt ist. Der Farbstoff kommt als sog. „Waidkugeln“ in den Handel. Dieselben werden aus dem Waid in der Weise hergestellt, daß man dessen Blätter schnell trocknet, mahlt und dann zu einem Teig verarbeitet, der einer ca. 14tägigen Gärung überlassen wird. Aus dem gegorenen Teig fertigt man dann nach reichlichem Durchkneten kleine rundliche Ballen an, die getrocknet werden und nun als „Waidkugeln“ zur Herstellung der Küpe in den Verkauf gelangen.

Bei der Waidgärung spielen sich sicherlich bakterielle Umsetzungen ab, die vielleicht auch für die Entstehung des fertigen Produktes eine gewisse Bedeutung besitzen. Näheres wissen wir darüber aber nicht. In den Blättern von Isatis tinctoria findet sich die als Isatan Beijerincks bekannt gewordene Indoxylverbindung, deren Spaltung durch die in der Pflanze gleichzeitig vorhandene Isatase bei der Bereitung herbeigeführt wird.

Die aus den Blättern von Polygonum tinctorium, dem „Färberknöterich“, in China und Japan übliche Indigodarstellung fußt ebenfalls auf einem ähnlichen Gärungsprozeß.

Bei der Indigofärberei treten ebenfalls bei der Herstellung der Küpen Gärungsvorgänge auf, die wahrscheinlich durch Mikroorganismen herbeigeführt werden. Dieselben reduzieren das Indigoblau und führen es dadurch in eine wasserlösliche Verbindung über.

Bei der **Orseillegärung** spielen Bakterien eine hervorragende Rolle, wie aus den Untersuchungen Czapeks hervorgeht. Es wird dabei das Erythrin der Orseilleflechten in Orzellinsäure, Kohlendioxyd, Orzin und den vierwertigen Alkohol Erythrit zerlegt. Diese Spaltung geschieht durch Oxydationen und nebenhergehende Reduktionen. Zu diesen Umsetzungen besonders befähigt soll eine dem Heubazillus ähnliche Bakterienart sein, die aus faulendem Harn stammt,

mit dem man gewöhnlich die Gärung bei der Orseillegewinnung ansetzt. Derselbe dient bei der Fabrikation als Ammoniak lieferndes Material, das man jetzt auch häufig durch Gaswasser ersetzt. Durch diese Bakterienart wird also Orzin abgespalten, das sich in der ammoniakalischen Lösung in Orzeïn umsetzt.

Die bei der Gewinnung von anderen Pflanzenfarbstoffen, wie Krappp aus der Wurzel mehrerer Rubiaarten, Rhamnetin aus den Gelbbeeren usw. einsetzenden Gärungen gehen wahrscheinlich lediglich auf Glykosid spaltende Enzyme zurück, die schon in der betreffenden Pflanze vorhanden sind. Dementsprechend kommen den sich ebenfalls dabei ansiedelnden Mikroorganismen im Verlaufe der Umsetzungen keine irgendwie nennenswerten Rollen zu.

Schwefelbakterien.

In der freien Natur entstehen durch bakterielle Tätigkeit fortwährend namhafte Mengen von **Schwefelwasserstoff**, der aus den verschiedensten Verbindungen stammt. Vorwiegend werden Eiweißstoffe von Bakterien unter Bildung von Schwefelwasserstoff abgebaut. In zweiter Linie spielen dann noch anorganische, schwefelsaure und schwefligsaure Salze eine Rolle für das Entstehen von Schwefelwasserstoff. Dabei müssen wir immer im Auge behalten, daß von allen Bakterien beim Aufbau ihres Protoplasmas Schwefelverbindungen gebraucht werden, die vielleicht nach einer Reduktion in die Synthese beim Eiweißaufbau eintreten. Auch die Bildung des Schwefelwasserstoffes scheint vornehmlich in Reduktionen des Eiweißmoleküles ihre Ursache zu haben und nicht in einer Abspaltung von in demselben bereits vorgebildeten H_2S-Gruppen. Das Gleiche gilt für die Entstehung von Schwefelwasserstoff aus sauerstoffhältigen, anorganischen Schwefelverbindungen, von denen in erster Linie Sulfate und Thiosulfate und Sulfite von Bedeutung sind. Es hat sich nun herausgestellt, daß die Fähigkeit der Bildung von reichlichen Mengen Schwefelwasserstoff eine spezifische Eigenschaft einzelner Mikroorganismen ist. Dieselbe hängt unmittelbar mit dem Protoplasma der betreffenden Mikroben zusammen, das eben zur Ausführung von Reduktionen der schwefelhaltigen Verbindungen befähigt ist und dieselben wahrscheinlich mit seinem Kohlenstoff durchführt oder aber durch Methan und Wasserstoff, die als Stoffwechsel- und Gärprodukte auftreten. Die Sulfatreduktion dürfte entsprechend den folgenden allgemeinen Formeln vorsichgehen, wobei das entstandene Sulfid durch Kohlendioxyd unter Schwefelwasserstoffausscheidung weiter zersetzt wird.

$$RSO_4 + 2C = 2CO_2 + RS$$
$$RS + CO_2 + H_2O = H_2S + RCO_3$$

Abgesehen von zahlreichen Fäulniserregern, die bei der Zersetzung des Proteïnmoleküles mehr oder minder große Mengen von Schwefelwasserstoff ergeben, finden sich noch besondere Bakterienarten, die in erster Linie kräftig Sulfate reduzieren. Vor allem ist da zu nennen Microspira desulfuricans Beijerinck, eine streng anaërobe Bakterienart aus Grabenschlamm, die nur bei völligem Abschluß des Luftsauerstoffes ihre Bewegungen ausführt. Sie ist

ein ausgesprochener Bewohner des süßen Wassers. Auch im Meerwasser findet eine reichliche Reduktion von Sulfaten statt, die aber hier die Microspira aestuarii Van Delden besorgt, die sicherlich mit der bereits genannen Microspira desulfuricans verwandt ist.

Neben dieser Reduktion von schwefelhältigen Verbindungen finden wir aber noch eine unmittelbare Vereinigung von freiem Schwefel mit Wasserstoff zu Schwefelwasserstoff, welchen Vorgang man auch als Hydrogenisation des Schwefels bezeichnet. Dieselbe scheint überhaupt mit reduzierenden Fäulnisvorgängen verknüpft zu sein, also ebenfalls in letzter Linie auf bakterielle und auch rein enzymatische Vorgänge zurückzugehen. Dieselbe Eigenschaft der Reduktion freien Schwefels soll übrigens dem Philothion innewohnen, jener aus dem Hefepreßsaft durch Ausschüttlung desselben mit 86proz. wässerigen Äthylalkohol ausziehbaren Substanz. Diese wird durch längere Erwärmung auf 70° C getrübt, wobei sie die Eigenschaft der Schwefelreduktion dauernd verliert.

Durch die im großen in der freien Natur, besonders in der wärmeren Jahreszeit, sich abspielenden Bildungen reichlicher Schwefelwasserstoffmengen kann eine nicht unbedeutende Gefahr für die Menschen und Tiere entstehen, da sich dieselben in erster Linie dort zeigen, wo große Mengen tierischer und pflanzlicher stickstoffhältiger Abfallprodukte im Wasser faulen. Dies trifft besonders für Kanäle, Stadtgräben, stagnierende, sehr verunreinigte kleine Gewässer und unreine Teiche zu. Aber auch in großen natürlichen Wasserbecken stellt sich eine beachtenswerte Menge von Schwefelwasserstoff ein, da ja auch hier zahlreiche Tierleichen der Fäulnis unterworfen sind. Im Meere kann unter Umständen durch ausgedehnte Sulfatreduktionen ebenfalls ein großer Gehalt an Schwefelwasserstoff geschaffen werden, wie z. B. im Schwarzen Meere, wo in größeren Tiefen unter 200—400 m gegen den Grund zu eine beträchtliche Zunahme desselben zu beobachten ist. So ergaben die Untersuchungen Lebendinzeff's im Liter Wasser aus dem Schwarzen Meere folgende Werte für den Schwefelwasserstoffgehalt:

In der Tiefe von	203	m	0,33 ccm
„ „ „ „	427	„	2,22 „
„ „ „ „	2026	„	5,55 „
„ „ „ „	2528	„	6,55 „

Auch in Salzseen, wie im Weissowo-Salzsee Rußlands, nimmt der Schwefelwasserstoffgehalt mit der Tiefe zu, wie folgende Zahlen der Bestimmungen Nadson's dartun:

In einer Tiefe von	16	m	5,91	ccm im Liter
„ „ „ „	18,1	„	88,31	„ „ „
„ „ „ „	18,7	„	184,96	„ „ „

Daß außer im Schwarzen Meere in den angrenzenden Meeren kein Schwefelwasserstoff nachweisbar ist und er hier auch nur auf größere Tiefen beschränkt bleibt, hat seinen Grund in mangelhafter Durchmischung der Wassermassen, die unterhalb von 170 m sich in vollständiger Ruhe befinden. Keine Strömung besorgt hier mehr eine Abfuhr des unreinen und Zufuhr frischen Meerwassers und das hohe spezifische Gewicht der tiefen Wassermassen verhindert jedes

Auftreten einer Vertikalströmung in denselben. Deshalb kommt es auch am Grunde dieses Meeres im Schlamm zu einer ungestörten anaëroben Fäulnis der in großen Mengen vorhandenen organischen Substanz bei Gegenwart von reichlichen Sulfatmengen des Meerwassers, wobei in großen Quantitäten Schwefelwasserstoff entsteht.

Der Limanschlamm, der von dem Grunde der Limane stammt, jenen kleinen Salzseen an der Küste des Schwarzen Meeres, die nur ein niedriger und schmaler Landstreifen von dem Meere trennt, ist infolge des Schwefeleisengehaltes tiefschwarz gefärbt, sofern die Luft abgeschlossen ist. Außerdem entströmt ihm reichlich Schwefelwasserstoff.

Beim freien Zutritt des Luftsauerstoffes wird der Limanschlamm grau, indem das Schwefeleisen oxydiert wird. Sobald der oxydierte Schlamm wieder mit der Salzsole bedeckt wird, schwärzt er sich alsbald wieder. Diese Schwärzung geht auf Mikroorganismen zurück, die aus den vorhandenen stickstoffhältigen organischen Substanzen Ammoniak und Amide abspalten und durch ihre reduzierenden Eigenschaften Schwefelwasserstoff liefern. Mit letzterem in alkalischer Lösung zusammentretende Eisensalze ergeben eine plastische Masse von feinverteiltem schwarzen kolloidalen Schwefeleisenhydrat, das die feinen Lehm- und Sandteilchen im Limanschlamme sozusagen zusammenhält und ihm sein kennzeichnendes Aussehen und charakteristisches Gepräge verleiht.

Bisher haben wir nur von einer ausgiebigen Produktion von Schwefelwasserstoff in der Natur unter verschiedenen Bedingungen gehört. Daß wir das reichliche Auftreten dieses für die höheren Tiere und Pflanzen giftigen Gases nicht sehr unangenehm empfinden, hat seine Ursache in zahlreichen gleichzeitig verlaufenden Oxydationsvorgängen, die den Schwefelwasserstoff zu Schwefelsäure verbrennen, die sich weiter zu recht nützlichen Salzen umsetzt. Diese Oxydation vollzieht sich unter dem Einflusse des Luftsauerstoffes als rein chemischer Vorgang sowohl in den durchlüfteten Partien des mit Schwefelwasserstoff geschwängerten Wassers, als auch in der Luft und im Boden.

Viel energischer verlaufen aber diese Oxydationsprozesse unter Mitwirkung der in der Natur ebenfalls weit verbreiteten **Schwefelbakterien**, von denen man heute schon eine stattliche Reihe von Arten mehr oder minder genau kennt. Sie alle sind dadurch ausgezeichnet, daß sie in ihrem Protoplasma Schwefel von eigenartiger Beschaffenheit (vgl. S. 27) in Form von Kügelchen massenhaft speichern, entsprechend der Menge vorhandenen Schwefelwasserstoffes. Der Schwefel entsteht dabei als erstes Oxydationsprodukt des Schwefelwasserstoffes, der mit Hilfe des freien Luftsauerstoffes verbrannt wird. Der in den Zellen nur kurze Zeit normalerweise niedergelegte Schwefel ist aber nur ein Zwischenprodukt des gesamten Oxydationsprozesses, den die Schwefelbakterien durchführen, denn alsbald wird derselbe zu Schwefelsäure weiterverbrannt. Letztere setzt sich sofort mit den stets vorhandenen Karbonaten um, von denen das Kalziumkarbonat wohl die wesentlichste Rolle spielt. Dementsprechend

findet also durch diese Organismen eine ständige Umwandlung von Karbonaten in Sulfate statt.

Die Oxydation des Schwefelwasserstoffes zu Schwefelsäure über freien Schwefel, die unter günstigen Verhältnissen in etwa 5 Minuten vollzogen ist, findet also in zwei Etappen statt, entsprechend den Gleichungen:

$$2H_2S + O_2 = 2H_2O + S_2$$
$$S_2 + 3O_2 + 2H_2O = 2H_2SO_4$$

Zur Bildung des Schwefelwasserstoffes aus Sulfaten sind die Schwefelbakterien aber nicht befähigt, denn ohne vorhandenen Schwefelwasserstoff können dieselben in Sulfate enthaltenden Nährsubstraten nicht gedeihen. Sie verbrennen dabei den etwa noch gespeicherten Schwefel zu Schwefelsäure und gehen dann innerhalb kurzer Zeit ein.

Nach den Beobachtungen Winogradsky's, dem wir die grundlegenden Untersuchungen über die physiologische Gruppe der Schwefelbakterien verdanken, scheint es zu Recht zu bestehen, daß auch diese Organismen ebenso wie die Nitrifikationsbakterien nicht nennenswerter Mengen organischer Nahrung bedürfen und sogar ohne dieselbe ihr Auslangen finden, sofern ihnen nur die passende Menge von Schwefelwasserstoff als Ersatz der Kohlenstoffquelle, wie sie andere Arten verlangen, zur Verfügung steht. Jedenfalls sind sie gegen größere Mengen organischer Nährstoffe sehr empfindlich, weshalb ihre Züchtung in den Nährgelatinen usw. bisher mißlang.

Wie wir schon gehört haben, müssen die Schwefelbakterien zwei Gase, Sauerstoff und Schwefelwasserstoff, zur Verfügung haben, die aber deshalb nicht in einer Mischung vorkommen können, da sonst eine Oxydation sofort eintreten müßte, die Schwefel und Wasser außerhalb der Zelle gibt. Demnach entnimmt die Schwefelbakterienzelle Sauerstoff von der Oberfläche und Schwefelwasserstoff aus der Tiefe der Flüssigkeit. Die Bakterien stellen sich also dort in Form einer dünneren oder dickeren Schicht ein, wo die Grenze zwischen Schwefelwasserstoff und Sauerstoff in der Flüssigkeit liegt. So entstehen in derselben schwebende Bakterienansammlungen, die als „Bakterienniveaus“ Beijerinck's und Bakterienplatten Jegunow's bekannt sind. Die Stellung und Lage dieser Ansammlungen werden natürlich einem ständigen Wechsel unterliegen, entsprechend dem herrschenden Luftdruck, mit dem auch der Sauerstoffdruck in der Flüssigkeit sich ändert, und der Menge Schwefelwasserstoff. Außerdem wird die Gesamtflora an Schwefelbakterien noch wesentlich von diesen Momenten beeinflußt, da die einzelnen Arten verschiedene Sauerstoff- und Schwefelwasserstoffoptima aufweisen.

Wir wollen uns nun in aller Kürze mit den bekanntesten Schwefelbakterien etwas näher befassen. Dieselben werden gewöhnlich in zwei größere Gruppen, die farblosen Schwefelbakterien und die Bakteriopurpurin führenden Schwefelbakterien eingeteilt. Abgesehen vom Farbstoff, unterscheiden sie sich auch dadurch, daß erstere maximal geringere Mengen von Schwefelwasserstoff vertragen als letztere, die selbst in konzentrierten Lösungen desselben noch zu leben vermögen.

Obwohl zwischen beiden Gruppen eine nahe Verwandtschaft besteht, erscheint es doch zweckmäßiger, die farblosen Schwefelbakterien von den Bakteriopurpurin führenden Purpurbakterien gänzlich zu trennen und

beide als selbständige Ordnungen nebeneinander zu führen. Die Purpurbakterien unterscheiden sich von den echten Schwefelbakterien durch ihr Verhalten zum Licht so wesentlich, daß ihre Abtrennung gerechtfertigt erscheint. Wir sind berechtigt, in dem Auftreten von Schwefelkörnchen bei einzelnen Purpurbakterien eine nebensächliche Erscheinung zu erblicken, während denselben bei den echten Schwefelbakterien eine lebenserhaltende Rolle zukommt.

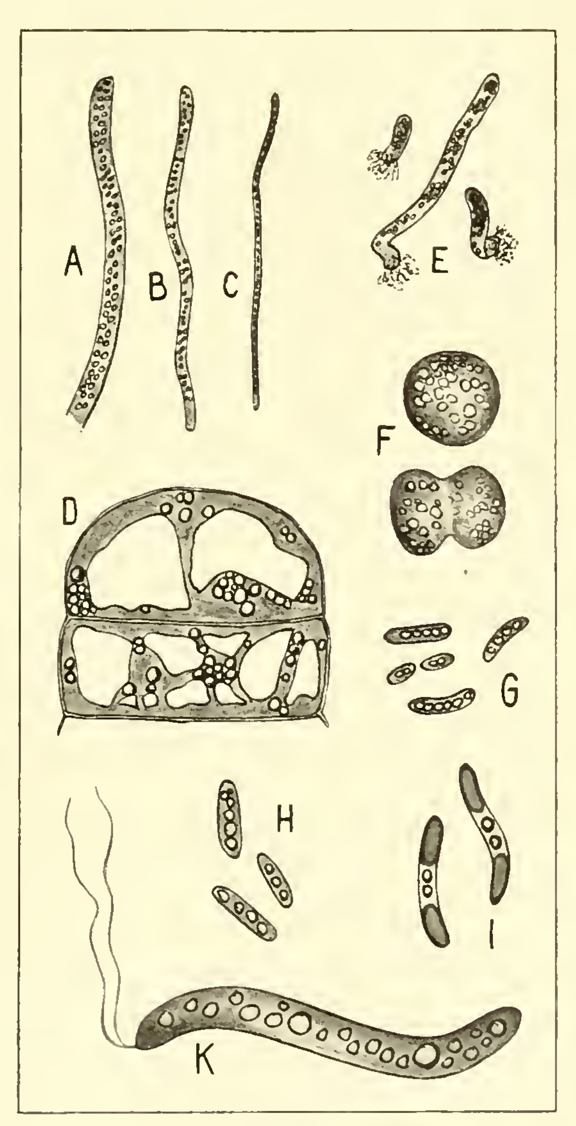


Fig. 92.

Die Schwefelbakterien in unserem Sinne bilden entweder lange und breite Zellfäden, die sich in Flüssigkeiten frei bewegen oder an Unterlagen festsitzen, oder wachsen als einzelne oder während der Teilung zu zweien vereinte Zellen.

Von den in freien Zellfäden vereinten Schwefelbakterien wurden schon einige Arten näher untersucht, die man mit Winogradsky mit dem Gattungsnamen Beggiatoa belegt. In *A*, *B* und *C* der Figur 92 sind drei derselben abgebildet, an denen die einzelnen Fadenglieder nicht zu sehen sind. Zu dieser Figur ist nur noch zu bemerken, daß alle Abbildungen derselben bei annähernd 900facher Vergrößerung angefertigt sind, so daß dieselben zugleich einen Einblick in die Größenverhältnisse der Schwefelbakterien überhaupt gestatten.

A entspricht einem Stück des Zellfadens von Beggiatoa alba Winogradsky, in denen die Schwefelkügelchen gut zu sehen sind. Diese zylindrischen Zellfäden, deren Länge oft über 1 cm erreicht, und die deshalb schon mit freiem Auge sichtbar sind, bewegen sich lebhaft. Die Dicke derselben mißt 2,8—2,9 μ, während die Länge des einzelnen

Fadengliedes zwischen 2,9 und 5,8 μ schwankt. *B* zeigt uns ein Stück vom Zellfaden der Beggiatoa media, deren Fadenbreite 1,6—1,7 μ beträgt, während die einzelnen Glieder eine Länge von 4—8,5 μ aufweisen. In *C* endlich sehen wir bei derselben Vergrößerung die Beggiatoa minima abgebildet, deren Fäden sich aus nur 0,8 μ in der Breite messenden Fadengliedern zusammensetzt. *D* zeigt uns den Riesen unter den Beggiatoën, Beggiatoa mirabilis Cohn, in einem optischen Längsschnitt nach Hinze. Es handelt sich bei dieser Art um zylindrische Fädenverbände, deren Glieder bis 45 μ in der Breite messen und eine etwa halb so große Länge aufweisen. Das Protoplasma erscheint durch zahlreiche Vakuolen zerklüftet und enthält reichlich größere und kleine Schwefelkörner, sofern bei genügendem Schwefelwasserstoffgehalt der Nährflüssigkeit gezüchtet wurde. Die bisher genannten Arten gehören zur Süßwasser- und Schwefelquellenflora. Molisch fand dann in einem faulenden Algeninfus im Triester Meerwasser eine Beggiotoa marina Molisch, deren Fadendicke 2—4 μ betrug.

Als zweite Gattung von Schwefelbakterien sind einige Thiothrix-Arten zu erwähnen. Dabei handelt es sich um seßhafte, farblose Schwefelbakterien, die längere Zellfäden ausbilden. Durch Ausbildung eines schleimigen Haftpolsters an einem Fadenende setzen sie sich auf Unterlagen fest, während der Faden selbst samt dem anderen Ende frei in die Flüssigkeit hineinragt. Den festsitzenden Teil machen breitere und kürzere Zellen aus, während gegen das freie Ende zu eine Verjüngung des Zellfadens und Zunahme der Länge der einzelnen Fadenglieder zu beobachten ist. Die einzelnen Zellen liegen bei der Gattung Thiothrix in einer sehr dünnen, aber deutlichen Scheide. Wir beobachten bei ihnen auch eine Konidienbildung, indem am freien Ende die äußerste Zelle den Faden verläßt, eine Zeit herumkriecht, dann an einem Ende das Haftpolster ausbildet und die Grundlage für einen neuen Zellfaden abgibt. Man unterscheidet entsprechend der Fadendicke mehrere Arten, von denen zuerst die in Figur 92 *E* abgebildete Thiothrix nivea Winogradsky genannt sei, deren Faden an der Basis 2—2,5 μ breit ist, während die Spitze nur 1,4—1,5 μ in der Breite mißt. Dann haben wir die etwas schmälere, aber in der ganzen Länge weniger ungleich breite Thiothrix tenuis und die sehr dünne Thiothrix tenuissima zu nennen. Weiter sind hier noch zwei marine Formen, Thiothrix anulata Molisch und Thiothrix marina Molisch aufzuführen.

Als dritte Gattung der Schwefelbakterien müssen die freilebenden, nicht zu Fäden vereinten Arten zusammengefaßt werden, für die noch kein besonderer Name eingeführt erscheint. Wir finden unter ihnen Kugel-, Stäbchen- und Schraubenformen.

Als riesige Kugelbakterie sei hier erwähnt die Thiophysa volutans Hinze, eine marine Form aus dem Golf von Neapel, deren Durchmesser 7—18 μ beträgt. Wir sehen sie in Ruhe und bei der Teilung in *F* der Figur 92 wiedergegeben.

Eine unbewegliche Stäbchenform ist das Bacterium Bovista Molisch aus Meerwasser, das in *G* der Figur 92 wiedergegeben ist. Es erzeugt nahe der Oberfläche blasenförmige Kolonien und enthielt meist 2—4 Schwefelkörnchen.

Von beweglichen Stäbchen-Schwefelbakterien seien zuerst die von Jegunow untersuchten genannt, deren Spezies *a* eine Länge von 4.5

bis 9 μ und eine Breite von 1,4—2,3 μ aufweist, während die Spezies β nur 0,6—0,8 μ in der Breite und 2,5—5 μ in der Länge mißt.

Molisch beobachtete in Meerwasser den Bacillus thiogenus Molisch, der in *H* der Figur 92 abgebildet ist.

Auch Schwefel führende Spirillen wurden von verschiedenen Forschern gesehen und beschrieben. Besonders erwähnt sei das in *I* der Figur 92 gezeichnete Spirillum bipunctatum Molisch, das sich im Triester schwarzen Meerschlamm ansiedelte. Ein Riesenspirillum aus Süßwasser ist das Spirillum granulatum Molisch, dem *K* der Figur 92 entspricht.

Wie schon aus dem bisher mitgeteilten zu entnehmen ist, befindet sich der natürliche Standort von Schwefelbakterien überall dort, wo im Wasser durch Zersetzung organischer Substanz Schwefelwasserstoff frei wird und sich im Wasser in Lösung befindet. Demnach finden wir sie reichlich im seichten Meerwasser und auch im organisch verunreinigten Süßwasser, außerdem aber auch dort, wo eine genügende mineralische Nahrung vorherrscht und gleichzeitig Schwefelwasserstoff vorhanden ist, wie in zahlreichen Mineral- und Schwefelquellen.

Im Anschluß an die echten Schwefelbakterien, die also Schwefelwasserstoff zu Schwefel und weiterhin Schwefelsäure oxydieren, müssen wir jener Organismengruppe gedenken, deren Vertreter zwar keinen freien Schwefel in ihrem Innern speichern, wohl aber Thiosulfate zu Tetrathionsäure und Schwefelsäure zu oxydieren vermögen. Man kann sie mit Recht unter Bezugnahme auf ihre biologische Leistung als „Thionsäurebakterien“ mit Omelianski bezeichnen. Der Verlauf dieser Oxydationen scheint nach der Formel

$$3Na_2S_2O_3 + 5O = Na_2S_4O_6 + 2Na_2SO_4$$

vor sich zu gehen. An der Oberfläche der Flüssigkeit, in der die Thionsäurebakterien diese Oxydationen besorgen, findet sich allerdings eine feine Ausscheidung von Schwefel, die aber auf eine sekundäre Umsetzung der entstandenen Tetrathionsäure mit dem noch unzersetzten Thiosulfat zurückzuführen ist und mit einer unmittelbaren bakteriellen Tätigkeit nichts zu tun hat.

Die durch Nathanson und später durch Beijerinck bekannt gewordenen Bakterien, die eine Oxydation von Thiosulfaten herbeiführen, sind kleine Stäbchen, die sich lebhaft bewegen und immer an der Oberfläche von Flüssigkeiten ansiedeln, um reichlich mit Sauerstoff versorgt zu sein. Sie begnügen sich mit anorganischen Salzlösungen und benützen als Kohlenstoffquelle entweder die Kohlensäure der Luft oder kohlensaure Salze, ohne daß diese Verbindungen etwa durch Traubenzucker oder andere organische Verbindungen ersetzbar wären.

Hier zu erwähnen wäre dann noch der Thiobacillus denitrificans Beijerinck, über dessen denitrifizierende Eigenschaften wir schon früher genaueres erfahren haben (vgl. S. 173). Auch diese Art vermag eine Oxydation festen, elementaren Schwefels zu Schwefelsäure herbeizuführen, also eine Teilleistung der echten Schwefelbakterien zu verrichten, ohne selbst im Innern Schwefel zu speichern oder eine Oxydation des Schwefelwasserstoffes einzuleiten.

Diese Oxydationen gelten nun ganz allgemein als besonders energieliefernde Prozesse, von denen die Zellen dieser Bakterienarten

vollauf ihren Energiebedarf gedeckt erhalten, da sie exothermisch verlaufen und eine große Anzahl von Kalorien liefern. Dadurch, daß durch sie Wärme produziert wird, also Energie in Form von Wärme frei wird und als solche gemessen und bestimmt werden kann, haben sie eigentlich jeden Wert als Energiequelle nach der bisher üblichen Anschauung verloren. Denn wie wir schon bei der Atmung hörten, kann ein Prozeß, bei dem Energie in Form von Wärme frei wird, der Zelle selbst keine Energie mehr liefern, da die gebildete Wärme alsbald von der Umgebung abgeleitet wird und dadurch für die Zelle auf immer verloren ist. Allerdings können die bei den Schwefelbakterien bekannt gewordenen Oxydationen des Schwefelwasserstoffes zu Schwefel und weiterhin zu Schwefelsäure sehr Energie liefernd sein, indem dabei das Endprodukt Schwefelsäure eine hochosmotisch wirksame Substanz ist. Gerade die Energiegewinnuntersuchungen an diesen verhältnismäßig einfachen Verbindungen und leicht zu überschauenden Umsetzungen werden vielleicht einen richtigeren Einblick in die wahren Verhältnisse ergeben, als alle Berechnungen von Kalorien bei der Verbrennung von hochkomplexen Verbindungen.

Wenn wir nun die Umsetzungen und Wandlungen des Schwefels kurz zusammenfassen, kommen wir zu folgenden Ergebnissen:

In der Natur findet eine reichliche Schwefelwasserstoffbildung vornehmlich durch Reduktionen statt, die besonders am Proteïnmolekül die sauerstoffhältigen anorganischen Schwefelverbindungen angreifen und von zahlreichen Bakterien ausgeführt werden. Dazu kommt noch die Hydrogenisierung des elementaren Schwefels und eine eventuelle, ebenfalls bakterielle Abspaltung von im Eiweißmolekül präformierten H_2S-Gruppen. Der nur für wenige niedere Organismen ausnutzbare Schwefelwasserstoff wird in den Kreislauf des Schwefels wieder durch Bakterien eingeführt, die eine Reihe von Oxydationen auslösen. Die echten Schwefelbakterien sind dabei am meisten beteiligt und liefern reichlich unter Aufbrauch von H_2S Schwefelsäure, die sich zu Salzen umsetzt und der höheren Pflanze als Schwefelquelle dient. Schwefelsäure bilden dann noch die Thionsäurebakterien und der Thiobacillus denitrificans Beijerinck, wenn auch hier das Ausgangsmaterial nicht H_2S ist.

Bei unserer Besprechung müssen wir den Schwefelbakterien die **Purpurbakterien** anschließen, da wir bei ihnen ebenfalls Formen finden, die freien Schwefel aus Schwefelwasserstoff erzeugen und diesen im Zellinnern speichern. Wir haben über dieselben schon einiges erfahren, besonders ihren Farbstoff und einige physiologische Erscheinungen betreffend, so daß wir hier nur kurz ihre Biologie zu erörtern brauchen. Wir finden unter den Purpurbakterien Kugel-, Stäbchen- und Schraubenbakterien, die sich aber alle durch ihren Farbstoff, das Bakteriopurpurin, von den übrigen Bakterien streng unterscheiden. Sie sind durchwegs mehr oder weniger sauerstoffscheu, wenn in dieser Hinsicht die Ansprüche der einzelnen Arten auch sehr verschieden sind. Die Purpurbakterien gedeihen beim Vorhandensein von faulenden organischen

Substanzen in Flüssigkeiten nur im Lichte, dessen Energie sie offenbar mit Hilfe ihres Farbstoffes für die Assimilation der organischen Verbindungen ausnützen (Molisch). Besonders in festen Nährsubstraten findet aber auch im Dunkeln allerdings eine gute Entwicklung der Purpurbakterien statt.

Wir verdanken nun Molisch eingehende Untersuchungen über diese außerordentlich interessante Bakteriengruppe. Ihm ist es auch gelungen, durch Verwendung geeigneter Nährsubstrate Reinkulturen dieser bisher nicht reingezüchteten Bakterien zu erhalten, so daß wir heute über einzelne Arten schon gut orientiert sind.

Die Mehrzahl der Purpurbakterien ist marin und besiedelt in großer Menge die Meeresküste an brackischen Wässern, so daß weite Strecken tief rot gefärbt oder pfirsichblütenfarbig erscheinen. Sie stellen sich sehr häufig mit den Schwefelbakterien vergesellschaftet ein. Weiter sind von ihnen bevorzugte Aufenthaltsorte Schwefelquellen, wo sich besonders die schwefelführenden Arten zeigen. Aber auch im Süßwasser, in Teichen und tieferen Gräben findet man nicht selten ausgedehnte Vegetation dieser Bakterien. Außerdem beobachtet man das Auftreten derselben häufig spontan in Faulflüssigkeiten von Knochen, Fischen usw.

Über die Formen und die an ihnen herrschenden Wachstumserscheinungen werden wir im System der Bakterien noch Näheres erfahren.

Literatur zur Vorlesung XXII.

Lafar, F., Mykologie der Zuckerfabrikation. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 455.
Czapek, F., Über Orseillegärung. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 4. S. 49, 1898.
Behrens, J., Indigogärung und andere Farbstoffgärungen. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 647.
Molisch, H., Neue farblose Schwefelbakterien. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 33, S. 55, 1912.
Omelianski, W., Der Kreislauf des Schwefels. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 3. S. 214.
Molisch, H., Die Purpurbakterien, Jena 1907.

DREIUNDZWANZIGSTE VORLESUNG.

Eisenbakterien. Nahrungsmittelkonservierung und Konservenzerstörung.

Die Eisen in ihren Scheiden speichernden Fadenbakterien, die man in der physiologischen Gruppe der Eisenbakterien vereinigt, spielen in der Natur und in der Praxis eine mitunter sehr wesentliche Rolle. In der Natur haben sie gewiß bei der Entstehung der Sumpf- und Rasenerze ihren Anteil, wenn sie auch sicherlich dafür nur selten in Betracht kommen. Andererseits treten sie in zahlreichen Betrieben, die mit Wasser arbeiten, störend auf, indem sie die Rostbildung in eisernen Wasserleitungsröhren sehr befördern und zu deren Verlegung Veranlassung geben und mitunter die Güte des Wassers durch ihre Eisenausscheidung ungünstig beeinflussen und es für manche Betriebe direkt unbrauchbar machen. Auch bei den in Flaschen abgezogenen, eisenhältigen Mineralwässern beschleunigen sie den Ausfall des Eisens, was natürlich sehr unerwünscht ist.

Wir wollen uns zunächst über die Physiologie der Eisenbakterien kurz orientieren. Nach den gelungenen Reinkulturen einiger Eisenbakterien durch Molisch haben wir jetzt einen besseren Einblick in ihre Ernährungsansprüche und Lebensweise. Im allgemeinen sind die Eisenbakterien keine anspruchsvollen Organismen, können aber nach den neueren Untersuchungen ohne organische Substanzen als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle nicht gedeihen, wohl aber ohne größere Eisen- und Manganmengen. Es scheint, daß die Eisenspeicherung nicht einen lebenswichtigen Vorgang darstellt, wie man früher meinte. Molisch konnte in Reinkulturen Leptothrix ochracea mit farblosen Scheiden züchten, die keine Eisenreaktion gaben, wenn man als Nährmaterial eine 1—2proz. Peptonlösung in destilliertem Wasser verwendete. Gewiß war dieses Peptonwasser, in dem die genannte Art üppig gedieh, nicht frei von jeden Eisenspuren. Es war aber sicher keine so große Menge vorhanden, daß es zu einer Speicherung kommt. Die Scheiden der Eisenbakterien nehmen nun gierig Eisenoxydul auf, das bei Sauerstoffmangel nicht weiter oxydiert wird, weshalb die Fäden dann auch nach der Speicherung des Oxyduls weiß sind. Erst bei Zutritt des Luftsauerstoffes findet die weitere Oxydation des Oxydules zu Oxyd statt und die Scheiden werden dadurch braun. Nach Molisch haben wir in dieser Eisenspeicherung keine unmittelbare Plasma- oder Zelltätigkeit zu erblicken. Nur die Bildung der Scheide, also der Gallertmasse, ist als solche zu

betrachten und höchstens die dauernde Erhaltung des physikalisch-chemischen Zustandes derselben, der es ermöglicht, immer größere Eisenmassen aufzunehmen. Es tritt nach dieser Anschauung das in der Flüssigkeit gelöst vorhandene Eisenoxydul in die Scheide ein und vielleicht auch in die Zellen vor, wird in den Scheiden festgelegt und schließlich von dem von außen her zutretenden Sauerstoff zum braunen Eisenoxyd weiteroxydiert. Diese Anschauung weicht von derjenigen Winogradskys über die Eisenspeicherung sehr wesentlich ab, denn nach letzterer sollte das Eisenoxydul in die Zelle eintreten, im Zellplasma oxydiert und dann erst als Oxyd in die Scheide abgegeben werden.

An Stelle der Eisenspeicherung kommt es bei der Darreichung von Mangan zur Manganablagerung in den Scheiden der Eisenbakterien. Dabei häuft sich Manganhydroxyd an, das wieder durch den Luftsauerstoff wahrscheinlich in manganige Säure und Manganite oxydiert wird.

Nach diesen neuen Untersuchungen verliert die Anschauung von dem Wert der gespeicherten Eisenmengen für diese Scheidenbakterien sehr wesentlich. Bei der Anwesenheit größerer gelöster Eisenquantitäten in der Kultur werden die Fäden allerdings länger und die Scheiden beträchtlich dicker, absolut notwendig für den Zellbestand ist dies aber keinesfalls. Diese Eisenvorliebe dieser Organismen scheint eine mehr nebensächliche Begleiterscheinung im Leben derselben zu sein.

In der freien Natur trifft man die Eisenbakterien meist dort, wo eisenhältiges und organisch verunreinigtes Wasser sich frei an der Luft befindet. Es fallen dann die braunen Schichten am Grunde des seichten, mäßig bewegten Wassers auf, die ganz aus diesen Organismen bestehen. Weiter siedeln sich die Eisenbakterien auch in Wasserleitungsröhren und auch in Brunnen an, wenn das Wasser stärker eisenhältig ist. Dies gilt natürlich besonders für die Eisenquellen. Sowohl das Brunnenwasser als auch dasjenige der Eisenquellen enthält immer größere Mengen organischer Substanz, wenn darin sich üppig diese Organismen ansiedeln. Beim gewöhnlichen Brunnenwasser macht man meist die Beobachtung, daß dann Eisenbakterien plötzlich in größerer Menge auftauchen, wenn der Brunnen aus irgend einem Grunde verunreinigende Zuflüsse aus der Umgegend erhält.

Im Laufe der Zeit wurden zahlreiche eisenspeichernde Scheidenbakterien bekannt, von denen Chlamydothrix ochracea, Chlamydothrix sideropous Molisch, Chlamydothrix ferruginea, Clonothrix fusca Schorler, dann Crenothrix polyspora und Chladothrix dichotoma wohl die verbreitesten sind.

Chlamydothrix ochracea, auch Leptothrix ochracea genannt, bildet dick umscheidete, gleich breite Zellfäden, an denen kein Unterschied von Basis und Spitze zu bemerken ist. Verzweigungen der Zellen fehlen. Die ovalen Konidien setzen sich oft an den älteren Fäden fest und wachsen zu neuen Strängen aus, wodurch Verzweigungen häufig vorgetäuscht werden. In Figur 15 auf S. 30 ist ein Stück eines dick bescheideten Zellfadens von Chlamydothrix ochracea mit eingelagertem Eisenoxydhydrat abgebildet.

Chlamydothrix sideropous Molisch ist eine besonders an Blättern verschiedener Wasserpflanzen festsitzende Eisenbakterie, die eine

besondere Haftscheibe ausbildet, in der vor allem Eisen gespeichert wird. In *D* der Figur 93 ist dieselbe abgebildet. Wir sehen die Haftscheibe entweder von der Seite als vorspringende Platte, die in der Zeichnung dunkel gehalten, in Wirklichkeit aber rotbraun vom eingelagerten Eisenoxydhydrat gefärbt ist, oder als runde Scheibe von vorne, aus deren Mitte der selbst ziemlich eisenarme Zellfaden herausgewachsen ist. Er besitzt nur eine dünne Scheide, die in den der Haftscheibe zunächst liegenden Teilen ebenfalls reichlicher Eisen enthält.

Chlamydothrix ferruginea oder Gallionella ferruginea ist eine Eisenbakterie, deren Fäden verflochten sind und so Zöpfe bilden, die oft mit dichten und massigen Eisenoxydhydratinkrustationen eingehüllt sind. Wir sehen davon eine Abbildung in Figur 93 bei *A*. Die Fäden verlaufen auch oft einzeln geschlängelt oder sind sehr dicht spiralig gedreht. Sie besitzen auch keine besonders ausgebildete Scheide. Gallionella ist ein häufiger Bewohner eisenhaltigen Wassers. Das Spirophyllum Ellis, ebenfalls in Figur 93 in *B* und *C* abgebildet, hat mit der Gallionella große Ähnlichkeit und unterscheidet sich von ihr nur dadurch, daß die Fäden bandartig, also breitgedrückt sind, während Gallionella drehrunde Fäden besitzt. Nodofolium Ellis ist eine ähnliche Art.

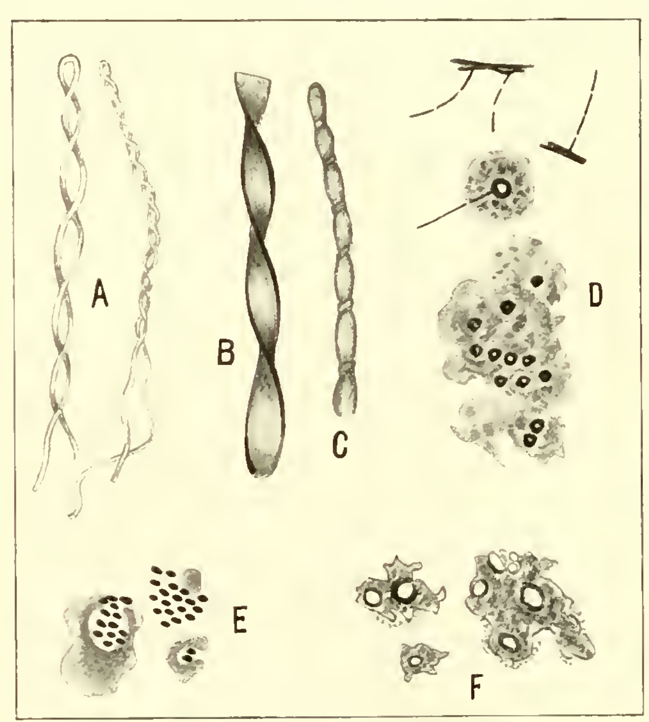


Fig. 93.

Clonothrix fusca Schorler wurde in Wasserleitungen gefunden und bildet lange, pseudodichotomisch verästelte Fäden, an denen eine breitere Basis und schmälere Spitze zu unterscheiden ist. Der Faden setzt sich aus längeren einzelnen Zellen zusammen, die von einer mäßig dicken, hellgelben bis braunroten Scheide zusammengehalten werden, deren Farbe mit dem Eisengehalt wechselt.

Crenothrix polyspora, der gemeine Brunnenfaden, ist wohl die verbreiteste Eisenbakterienart, die durch ihre massenhaften Wucherungen Wasserleitungen sehr arg zu gefährden vermag. In Figur 44 auf S. 63 sehen wir diese Art mit ihren Konidien abgebildet. Sie speichert nur

wenig Eisen in den mäßig dicken Scheiden der älteren Zellen und setzt sich sehr gerne an Bröckelchen von Eisenoxydhydrat an.

Cladothrix dichotoma, von der ein Fadenstück mit den Schwärmkonidien in der Figur 44 auf S. 63 wiedergegeben ist, hat ebenfalls eine weite Verbreitung. Die falsch verzweigten Fäden siedeln sich auf Steinchen und anderen Unterlagen im Wasser an. Die relativ dicke Scheide speichert aber nur wenig Eisen.

Molisch hat uns noch mit zwei anderen Eisenbakterien bekannt gemacht, die aber nicht zu den Scheidenbakterien gehören. Sie scheiden eine Gallerte ab, in die Eisenoxydhydrat in großer Menge abgelagert wird. Diese Gallertflecken überziehen Wasserpflanzen in weiter Ausdehnung, so daß dieselben eine dunkel rostbraune Farbe bekommen und nur stellenweise grüne Teile durchschimmern lassen, wenn ein Blatt davon besetzt ist.

Die eine Art ist Siderocapsa Treubii Molisch, die in *F* der Figur 93 abgebildet ist. Die einzelnen von Eisenoxydhydrat durchsetzten Gallertkrusten haben einen Durchmesser von 5—18 μ und treten zu größeren Auflagerungen zusammen. In den mittleren Teilen der Gallerkapsel beobachtet man einen meist elliptischen hellen Hof, in dem Kugelbakterien von 0,4—0,6 μ Durchmesser liegen. Über sechs Bakterien in einer Kapsel sind selten zu finden.

Die zweite Art ist ein kurzes Stäbchenbakterium, die Siderocapsa major Molisch, die ebenfalls in Figur 93 bei *E* gezeichnet ist. Die größeren 0,7—1,8 μ messenden Bakterien liegen in größerer Anzahl in einer weniger scharf begrenzten Gallertmasse, die von Eisenoxydhydrat durchsetzt ist.

Schon bei der Besprechung der Standorte der Eisenbakterien haben wir gehört, daß sich dieselben häufig in eisernen Wasserleitungsröhren ansiedeln und dort zu ausgiebiger Rostbildung und zu Verstopfungen Veranlassung geben. Diese Rostbildungen nehmen dabei in blanken Rohren ihren Ausgang von einzelnen kleinen Flecken, an denen sich die Eisenbakterien angesiedelt haben. Die Ansammlungen vergrößern sich in der Folge und treten dann zusammen, so daß es bei engen Rohren zu einem vollkommenen Verschluß kommen kann. Dabei sind hauptsächlich die früher kurz beschriebenen Chlamydothrixarten, Crenothrix und Clonothrix beteiligt. Allerdings sind die Eisenbakterien nicht die alleinige Ursache der genannten Rostbildungen, die bei organisch nur minimal verunreinigtem Wasser auf rein chemische Vorgänge zurückzuführen sind. Dieselben spielen aber gewiß dort eine bedeutsame Rolle, wo für eine Eisenbakterienflora günstige Verhältnisse durch vorhandene organische Beimengungen herrschen. Deshalb sind alle diese unliebsamen Rostbildungen im zweiten Falle auf zwei Ursachen zurückzuführen. Die chemische Rostbildung wird durch die Eisenbakterien eben mächtig gefördert und die Ablagerungen durch sie auf bestimmte Bezirke konzentriert, was natürlich die Gefahr eines störenden Rohrverschlusses mächtig erhöht.

Die Eisenbakterien stehen aber auch mit **Rasenerzbildungen** in ursächlichem Zusammenhang, wenn dies auch nur in einzelnen Fällen zutrifft, wie die Untersuchungen Molischs und anderer dargetan haben. Allerdings ist dabei noch zu bedenken, daß

im Laufe der Zeit selbst in den durch Bakterien gebildeten Rasenerzen die Scheiden derselben längst derartige Veränderungen erlitten haben, die einen Nachweis derselben im Erz unmöglich machen. Trotzdem ist die Bildung von Rasenerzen ohne Zutun von Eisenbakterien ebensogut möglich und geschieht auch heute noch in der Natur, wie zahlreiche Fälle es beweisen. Demnach müssen wir uns eine Entstehung von Sumpf-, Rasen- und Quellerzen so denken, daß dieselbe meistens auf rein physikalisch-chemischem Wege vor sich geht und nur in seltenen Fällen durch Eisenbakterien, insonderheit Chlamydothrix ochracea und Chlamydothrix ferruginea herbeigeführt wird. Die beiden letztgenannten Arten konnten in verschiedenen Rasenerzen in enormer Menge nachgewiesen werden, so daß sie mit Recht mit der Entstehung dieser bakterienreichen Erze in Verbindung gebracht werden dürfen.

Wie wir oben schon gehört haben, sind die natürlichen, eisenreichen Mineralwässer ebenfalls Fundstätten für Eisenbakterien. Dies gilt besonders für die ausgesprochenen, medizinischen Eisenwässer. Das in solchen Wässern schon in kurzer Zeit der größte Teil des gelösten Eisens als Eisenoxydhydrat ausfällt, wodurch eine Entwertung desselben eintritt, ist ebenso bekannt. Es darf natürlich nichtwundernehmen, daß das als Ferrokarbonat bei überschüssigem Kohlensäuregehalt in Lösung befindliche Eisen beim Zutritt der Luft oxydiert wird und als Eisenoxydhydrat ausfällt. In der richtigen Erkenntnis der Sachlage bemüht man sich auch beim Abfüllen der Eisenwässer, die immer auch reich an Kohlensäure sind, ein Entweichen derselben möglichst hintanzuhalten und für guten Verschluß der Flasche zu sorgen. Trotzdem treten die Fällungen meist innerhalb kurzer Zeit ein. Neuere Untersuchungen haben nun ergeben, daß mit einem spontanen Ausfallen des Eisens immer gerechnet werden muß, daß dasselbe aber durch Eisenbakterien wesentlich beschleunigt wird. Meist spielen dabei Chlamydothrix ferruginea und auch Chlamydothrix ochracea eine Rolle, während andere Scheidenbakterien nur in seltenen Fällen zur Beobachtung gelangen. Beweisend für diesen Schluß waren Sterilisations- und Desinfektionsversuche von Eisenwässern, die ergaben, daß die Haltbarkeit derselben durch Ausschaltung der in Rede stehenden Mikroorganismen bedeutend verlängert worden war.

Das Vermögen der Eisenspeicherung finden wir noch bei zahlreichen anderen, nicht pilzlichen, niederen Organismen, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll. Bei entsprechenden Spezialversuchen werden sich sicherlich auch Fadenpilze und auch höhere Pilze als zur Eisenspeicherung befähigt erweisen, wenn auch darüber vorläufig eingehendere Angaben noch nicht vorliegen.

Nachdem wir nun die Lebensweise und Lebenstätigkeit der technisch wichtigsten Bakterienarten kennen gelernt haben, können wir uns des Näheren mit der **Haltbarmachung der Nahrungs- und Genußmittel** befassen und jene Maßnahmen im Prinzip erörtern, die dabei zu brauchbaren und für den Konsumenten wertvollen Produkten führen. Am wichtigsten ist wohl die Konservierung von Nahrungsmitteln, wie

Fleisch, Milch, Gemüse, Obst usw., weshalb dieselbe zuerst besprochen werden soll.

Man war schon von alters her bestrebt, Nahrungsmittel möglichst unter Erhaltung des ursprünglichen Wohlgeschmackes für spätere Zeiten genußfähig aufzubewahren, zu konservieren. Die dabei geübten Methoden gründeten sich auf eine Reihe von Erfahrungen. Erst den letzten Dezennien war es vorbehalten, die Konservierungsmethoden auf eine wissenschaftliche Grundlage zu stellen, die durch die Physiologie der Kleinlebewesen gegeben ist.

Im allgemeinen arbeitet man bei allen Konservierungen nach drei Methoden:

Die erste besteht darin, durch chemische oder physikalische Maßnahmen sämtliche vorhandenen Kleinlebewesen in dem zu konservierenden Nahrungsmittel zu vernichten, es also zu sterilisieren und in der Folge während der Aufbewahrung jede neuerliche Infektion durch geeignete Verschlüsse fernzuhalten. Durch diese Art der Haltbarmachung erhält man ein sehr dauerhaftes Produkt, das Jahre hindurch fast unbegrenzt genußfähig bleibt.

Die zweite Art der Konservierung fußt auf der Eigenschaft aller Mikroorganismen, bei tiefen Temperaturen, ungenügendem Feuchtigkeitsgehalt und größeren Salzkonzentrationen sich nicht mehr zu vermehren und auch keine Zersetzungen mehr herbeizuführen. Es wird dabei also durch Kälte ein Wachstumsstillstand der im Nahrungsmittel vorhandenen Mikroben herbeigeführt, der so lange dauert, als die tiefe Temperatur herrscht. Solche Konserven sind also nur so lange haltbar, als sie sich im gefrorenen Zustande befinden. Es kommt also dabei überhaupt zu keiner Vernichtung von Kleinlebewesen.

Die dritte und letzte Methode der Konservierung besteht darin, durch bakterielle Umsetzungen im Nahrungsmittel Stoffe entstehen zu lassen, die jede andere Mikroorganismenflora schon nach kurzer Zeit ausschaltet. Im allgemeinen sind also hier gewisse Bakterien, wie Essig- und Milchsäurebakterien, selbst die Desinfektoren. Wir haben die Art der Konservierung schon bei der Besprechung der Gewinnung von Sauerkraut, Gurken usw. kennen gelernt. Auch die alkoholische Gärung durch Hefen wirkt in demselben Sinne durch den gebildeten Äthylalkohol konservierend. Die Haltbarkeit des alkoholreichen Weines ist darauf zurückzuführen. Die nach dieser dritten Methode gewonnenen Produkte zeigen eine meist geringe Haltbarkeit, die bei den Sauergemüsen als sehr kurz zu bezeichnen ist.

Die zuverlässigste Methode der Konservierung zur Herstellung unbegrenzt haltbarer Dauerwaren ist die erstgenannte, sofern sie sachgemäß durchgeführt wird. Gewöhnlich wird durch Hitze allein sterilisiert und von der Beigabe besonderer Desinfektionsmittel abgesehen, deren Zusatz auch die meisten Gesetze verbieten. Die Durchführung richtet sich dabei nach dem zu konservierenden Produkt und wird dementsprechend bei Fleischkonserven anders ausfallen als bei der Haltbarmachung von Gemüsen. Es lassen sich dafür keine allgemein gültigen Regeln angeben. Man kann

höchstens sagen, daß die mit Erdbakterien infizierten Nahrungsmittel eine weitaus längere Sterilisierungsdauer bei sehr hohen Temperaturen erfordern, als die nicht mit solchen Bakterienarten verunreinigten Produkte. Für die Konserven kommen als Aufbewahrungsgefäße entweder solche aus Glas oder Blech in Verwendung. Letztere sind wegen ihrer Billigkeit und sicheren Verschließbarkeit im Großbetrieb bevorzugt. Ganz allgemein verfährt man bei der Zubereitung der Konserven in der Weise, daß die halbfertig zubereiteten Nahrungsmittel in die entsprechenden Gefäße eingefüllt, dann luftdicht verschlossen und in diesem Zustand in großen geschlossenen Kesseln mit Wasser unter Dampfdruck die entsprechende Zeit hindurch auf 100—120° erhitzt werden. Natürlich muß bei der Verwendung von Blechgefäßen auf das für dieselben verwendete Material geachtet werden. Einwandfrei sind nur verzinnte Eisenblechbüchsen, die bei der Verwendung zur Gemüse- oder Kompottkonservierung noch mit einem ungiftigen und geruchlosen Spirituslack überzogen sind. Der Deckel wird auf die Blechbüchsen entweder gelötet, wozu möglichst bleifreies Lot zu verwenden ist, oder noch besser maschinel aufgefalzt. Diese aufgepressten Deckel sitzen vollkommen dicht, wenn sorgfaltig arbeitende Falzmaschinen zur Verwendung gelangen. Viele Luxuskonserven von Obst, Fleisch und Gemüsen werden in Gläsern auf den Markt gebracht. Es existieren eine ganze Reihe verschiedener Konservengläser und fast jede Fabrik hat ihre besonderen Typen und Verschlußarten, die aber alle den einen Zweck haben, nach der Sterilisierung einen absolut luftdichten und damit auch keimdichten Verschluß herbeizuführen. Ganz allgemein sind dieselben so hergestellt, daß ein Metall- oder Glasdeckel mit einer zusammenpreßbaren und undurchlässigen Zwischenlage von Kork, Korkmasse oder Kautschuk dicht aufgesetzt ist. In der Figur 94 sind schematisch zwei Verschlüsse von Konservengläsern, wie sie im Fabriksbetrieb Verwendung finden, im Schnitt wiedergegeben. Dieselben bestehen im allgemeinen aus einem Blechdeckel D und einem über denselben greifenden Reifen R aus Blech, der des leichteren Öffnens wegen durch ausgestanzte Zungen zusammengehalten ist. Als Zwischenlage zur vollständigen Abdichtung dient bei I ein mit K bezeichneter Kautschukring. Außerdem ist hier unter den Deckel D noch eine Scheibe von Pergamentpapier eingelegt. Diese Verschlußart findet für feine Obstkonserven häufig Anwendung. Für die gewöhnlichen, sogenannten Konsumobstkonserven gebraucht man meist den einfacheren in II wiedergegebenen Verschluß. Derselbe enthält als Dichtung eine 2—3 mm dicke Korkplatte (K'). Aufgesetzt und befestigt wird der Verschluß in beiden Fällen gleich. Dazu dienen eigene Maschinen. Unter gleichzeitigem Aufpressen des Deckels wird der untere Teil des Ringes R in eine unter dem Rand der Mündung des Glases befindliche Rinne eingedrückt. Dadurch wird der Deckel in aufgepreßtem Zustand festgehalten. Die folgende Figur 95 gibt uns ein Bild von Konservengläsern mit teilweise aufgelegtem und eben eröffnetem Verschluß

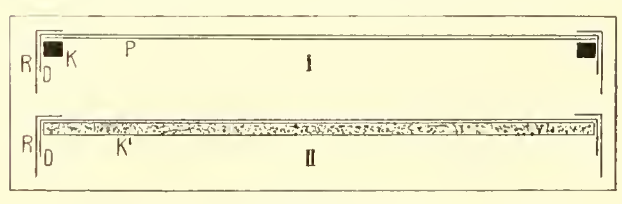


Fig. 94.

und zeigt uns auch die ausgestanzten Zungen des Reifens, die denselben zusammenhalten und sich beim Öffnen leicht entfernen lassen. *A* dieser Figur entspricht einem weithalsigen, für Obst- und Gemüsekonserven bestimmten Glas, auf dessen glatt geschliffenen Rand die Korkscheibe aufgelegt und der Reifen mit dem Deckel oben aufgeschoben wird, während *B* den Verschluß beim Öffnen einer Konservenflasche zur Anschauung bringt. Hier ist der Reifen, der den hier gut sichtbaren Deckel *D* niederpreßt und festhält, bereits zum Teil abgelöst.

Vielfach werden die Konserven auch in nicht vollständig geschlossenem Zustande erhitzt. Die Blechbüchsen sind in diesem Falle nicht gänzlich verlötet, sondern besitzen noch eine kleine Öffnung, die erst unmittelbar nach der Sterilisation zugelötet wird. In großen Fabriken besorgen eigene Maschinen die letzte Verschlußarbeit in noch heißem Zustande der Büchse, ohne Entnahme derselben aus dem Sterilisationsapparat, so daß dabei jede Möglichkeit einer nachträglichen Infektion des Inhaltes ausgeschlossen ist.



Fig. 95.

Wie schon angedeutet, werden die Konserven in großen verschließbaren Kesseln entweder durch Dampf keimfrei gemacht oder unter Wasser getaucht erhitzt. Dabei finden meist Temperaturen über 100° Anwendung. Im allgemeinen erhitzt man alle in geschlossenen Behältern eingelegten Konserven unter Wasser gebracht, während man die andern in überhitztem Dampf sterilisiert.

Neuerdings werden auch zahlreiche Gemüse-, Obst- und Fleischkonserven im Hausbetriebe hergestellt und für diesen Zweck recht brauchbare Apparate und Gläser in den Handel gebracht, deren Verschluß auch einfach und dauerhaft ist und einen oftmaligen Gebrauch zuläßt. Vor allen ist hier die Wecksche Einrichtung zu erwähnen, auf die schon früher (S. 156) hingewiesen wurde. Dort ist der Verschluß auch eingehend beschrieben und abgebildet (Figur 66).

Von einer einwandfreien Konserve müssen wir verlangen, daß sie weder lebende Bakterien noch Sporen derselben enthält. Dies gilt in erster Linie für die Fleischkonserven, die so lange und

bei solchen Hitzegraden zu sterilisieren sind, daß auch die widerstandsfähigsten Dauerformen der Erdbakterien sicher vernichtet sind. Die Fleischkonserven erfordern auch deshalb eine gründliche Sterilisation, weil bei der Schlachtung der Tiere zahlreiche Bakterien und Sporen vom Haarkleid zum Fleisch gelangen und mitunter die geschlachten Tiere an Infektionskrankheiten gelitten haben, die trotz einer Fleischkontrolle und Fleischbeschau übersehen und dann bei ungenügender Erhitzung auf den Menschen durch den Genuß solcher Konserven übertragen werden können. Es muß bei der Konservierung auch darauf geachtet werden, daß alle Teile der Konserve den nötigen Hitzegrad eine genügende Zeit über besitzen. Je größer die Konservenbüchse selbst ist und je größere Fleischstücke sich in derselben befinden, desto länger muß erhitzt werden. Außerdem sollen immer einige Büchsen zur Probe für die wirklich stattgefundene Erhitzung mit einem ins Innere reichenden Thermometer oder mit einer bei einer bestimmten Temperatur schmelzenden Metalllegierung versehen werden, um festsetzen zu können, daß tatsächlich die gewünschte Temperatur im Innern erreicht worden ist.

Die ganzen Fleischkonservenherstellungsverfahren könnten nun wesentlich vereinfacht und die Erhitzungen weniger hoch getrieben werden, wenn sich das aseptische Schlachten und Aufarbeiten des Tieres einbürgern würde. Trotz gegenteiliger Annahmen kann man das Innere des Fleisches und natürlich die Muskeln und Gewebe der Tiere überhaupt während des Lebens und kurz nach dem Tode als keimfrei ansehen. Dies gilt aber nur für gesunde Schlachttiere. Auch die unverletzten Früchte und Pflanzen sind im Innern vollständig frei von Mikroben. Es würde demnach gerade bei der Herstellung der Fleischkonserven mit keimfrei, also aseptisch gewonnenem Fleisch eine kurz dauernde Erhitzung auf 80—100° zur Erreichung einer unbedingten Haltbarkeit genügen. Ohne diese Erwärmung könnte man dabei niemals auskommen, da sich in allen Geweben die überlebenden Enzyme finden, welche zur keimfreien Autolyse des betreffenden Gewebes führen, also einen unerwünschten Abbau der Proteine desselben verursachen. Wenn dieser auch nicht mit der Fäulnis in Parallele gesetzt werden darf, so treten durch ihn doch solche Veränderungen im Fleische u. dgl auf, daß es nicht mehr genußfähig ist.

Wie schon angedeutet, benutzt man zu Konservierungen auf kürzere Zeit meist die zweite und dritte Methode. Bei beiden findet keine Sterilisation der betreffenden Nahrungsmittel statt. Es wird nur die Bakterienvermehrung eingeschränkt oder auf bestimmte Arten begrenzt.

Speziell das Fleisch konserviert man nach der zweiten Methode durch Kühlung, durch Entzug größerer Mengen von Feuchtigkeit mit Vermehrung des Salzgehaltes und Einführung von Desinfektionsstoffen, wie beim Räuchern.

Die **Konservierung von Fleisch durch Kälte** geschieht entweder durch Einlegen desselben in Eis oder durch Aufhängen desselben in ausgekühltem Zustande in trockener, kalter Luft, die entweder stagniert oder gewechselt wird, oder endlich durch Gefrierenlassen in sehr tiefen Temperaturen. Von einer auch nur mehrere Tage dauernden Haltbarmachung des Fleisches im Eisschrank kann kaum gesprochen werden, da sowohl die gewöhnlichen Haushaltungseiskästen als auch diejenigen der Fleischhauer meist eine Temperatur von +4 bis +6° aufweisen, bei welcher sich noch zahlreiche Bakterien rasch vermehren und

das Fleisch verderben. Selbst bei 0° aufbewahrtes Fleisch verdirbt häufig. Erst bei Temperaturen unter —4° ist eine längere Haltbarkeit des Fleisches verbürgt. Für die Versendung von Säugetier- und Fischfleisch spielt das Gefrierenlassen eine sehr große Rolle. Für die beiden Fleischarten muß es aber verschieden durchgeführt werden, da nur das Säugerfleisch die Reifung nach der Schlachtung durchmachen darf, während das Fischfleisch durch einen Reifungsprozeß ungenießbar wird.

Das Fleisch der Rinder wird nach dem Schlachten auf 3 Tage in Kühlräume gebracht, deren Temperatur —20° beträgt. Man bezeichnet diese Art des Abkühlens, die meist in Chicago geübt wird, als plötzliches Gefrierenlassen. Bis zum Transport verbleibt es nachher in festgefrorenem Zustande bei —6°. Beim allmählichen Gefrierenlassen kommt das Fleisch nach kurzer Trocknung an der Luft in einen auf —6° abgekühlten Raum, in dem es nach etwa 10—12 Tagen fest gefroren ist.

Bei der Kältekonservierung der Fische ist zur Vermeidung der Reifung sehr rasches Töten und Ausweiden derselben nach dem Fange und sofortiges Kühlen bei sehr tiefen Temperaturen unerläßlich.

Sobald das Fleisch aufgetaut ist, muß es möglichst bald verbraucht werden. Es hat sich gezeigt, daß für die Brauchbarkeit desselben die Art des Auftauens von großer Bedeutung ist. Fest gefrorenes Fleisch in großen Versandstücken braucht zum Auftauen 24—36 Stunden. Dasselbe soll in mäßig warmen, gut ventilierten Räumen geschehen, so daß jede Taubildung auf dem Fleische vermieden wird. Schlägt sich Feuchtigkeit darauf nieder, so verdirbt es meist innerhalb weniger Stunden, während es sonst 2—3 Tage noch haltbar ist.

Viel haltbarer sind die durch **Trocknung** erhaltenen Fleischkonserven. Es ist dies übrigens ein schon von alters her geübtes Verfahren, das auch heute noch besonders in den heißen Ländern viel benützt wird. Die Trockenfischkonserven, wie der Stockfisch usw. sind allbekannt. Auch Rindfleisch konserviert man durch Trocknen an der Sonne, wie z. B. das Carne secca in Brasilien erzeugt wird. Der Pemmican Nordamerikas ist ebenfalls eine durch Trocknung hergestellte Fleischkonserve, die aus Büffelfleisch, das nach dem Trocknen mit Büffelfett gemengt wird, bereitet ist. Die Fleischmehle sind nichts anderes, als nach dem Trocknen gepulvertes Fleisch. Sie erhalten aber häufig noch verschiedene Zusätze. Sollen diese Konserven lange Zeit brauchbar und unverdorben erhalten bleiben, so müssen sie vor jedem Zutritt von Feuchtigkeit sorgfältigkeit bewahrt werden.

Das **Räuchern von Fleisch** besteht darin, durch die Einwirkung des heißen Rauches von Laubhölzern dem Fleisch einen Teil seines Wassers zu entziehen und dabei ihm desinfizierende Stoffe aus dem Rauch zuzuführen.

Durch Räuchern werden in erster Linie Schweinefleisch, Würste und Fische und dann auch Pferdefleisch und Wildbret konserviert. Im Hausbetrieb benutzt man besondere Kamine zum Räuchern oder auch größere Räume, an deren Decke das zu räuchernde Fleisch aufgehängt und vom vorbeiziehenden Rauch bestrichen wird. Als raucherzeugende Hölzer kommen nur solche von Laubbäumen, meist Buchen, in Betracht, da infolge des großen Harzgehaltes die Nadelhölzer voll-

ständig unbrauchbar sind. Der Rauch wird nun auch verschieden heiß angewendet, so daß man von einem kalten und warmen Räuchern sprechen kann. Die Dauer desselben ist ebenfalls verschieden und beträgt beim langsamen Räuchern entsprechend der Größe der Fleischstücke eine bis mehrere Wochen. Dabei steigt die Wärme nicht über 30°. Bei dem beschleunigten Räuchern werden Temperaturen bis 100° erreicht, während die Dauer desselben einige Stunden bis mehrere Tage beträgt. Die besten Ergebnisse erhält man mit dem meist üblichen, ununterbrochenen Räuchern, da das weniger geübte unterbrochene Räuchern, bei dem die Rauchzufuhr nachtsüber unterbleibt, insofern leicht zu verdorbenen Produkten führt, als ein Beschlagen des Rauchfleisches während der Räucherpause nahezu unvermeidlich ist. Diese äußerliche, täglich mehrere Stunden dauernde Benetzung vermehrt, abgesehen von Neuinfektionen, auch die Gefahr der Entwicklung vorhandener Fäulniserreger.

Beim Räuchern verlieren besonders die oberflächlichen Partien des Fleisches etwas von ihrem Wassergehalt und nehmen gleichzeitig Produkte des Rauches auf. Zur bestmöglichsten Rauchentwicklung vermeidet man einen starken Luftzug, wodurch ein an Produkten der trockenen Destillation des Holzes reicher Rauch entsteht. Beim Buchenholz enthält derselbe neben Kohlensäure und Kohlenoxyd Aldehyde (Formaldehyd), Phenole, Kreosot usw. Es sind dies tatsächlich ziemlich kräftig desinfizierende Stoffe, die gewiß eine sehr starke Verminderung der oberflächlichen Mikrobenflora des Rauchfleisches herbeiführen. Es sollen dabei besonders die Aldehyde der Fettreihe wirksam sein. Tief reicht diese Wirkung aber keinesfalls, da zahlreiche Versuche ergeben haben, daß durch das Räuchern im Innern des Fleischstückes vorhandene pathogene Mikroorganismen nicht mit Sicherheit vernichtet werden. Darauf ist besonders bei Würsten zu achten, wo die ganze Masse gleichmäßig infiziert sein kann. Hier bietet das Räuchern für eine Keimfreiheit im Innern und die Erhaltung derselben durchaus keine Sicherheit. Darum muß auch in bezug auf das Räucherfleisch und die Würste die Forderung erhoben werden, dazu nur Fleisch von gesunden Tieren zu verwenden. Dem Räuchern scheint übrigens eine sehr starke Nachwirkung auf die nach demselben noch lebend und entwicklungsfähig vorhandenen Mikroben zuzukommen, da bezügliche Untersuchungen dargetan haben, daß die Bakterienzahl beim längeren Lagern des Rauchfleisches erheblich abnimmt. Besonders keimarm sollen die geräucherten Fische sein.

Häufig und in unseren Ländern fast immer schickt man dem Räuchern ein Pökeln oder mindestens Einsalzen voraus, wodurch die Wirkung des ersteren sicher vergrößert wird. Das Pökeln und Einsalzen führt zu einem Wasserverlust. Derselbe soll wieder das Eindringen der Destillationsprodukte des Rauches erleichtern.

In den Großbetrieben finden jetzt vielfach sog. „Schnellräucherungsverfahren“ Anwendung, die aber kein annähernd so haltbares Produkt liefern. Bei denselben wird nicht mehr mit Rauch geräuchert; man bestreicht vielmehr einige Male die Stücke mit Lösungen von Holzessig, Kreosot und Wachholderöl oder legt sie in dieselben ein. Oft werden die Lösungen der genannten Stoffe auch nur verdampft und in den Dampf die Fleischstücke gehängt.

Die **Haltbarmachung von Fleisch durch Pökeln und Salzen** wird sowohl im Hausbetrieb als auch im Großen häufig angewendet. Es eignen sich dazu aber nicht alle Fleischsorten gleich. Die besten Produkte gibt Schweinefleisch und Geflügelfleisch, wie Gänsebrüste, und Fische. Fettes Rindfleisch und Pferdefleisch soll ebenfalls dazu brauchbar sein, während Hammelfleisch dabei eine faserige Beschaffenheit annimmt. Das Pökeln und Einsalzen wirkt einerseits stark wasserentziehend, wobei auch lösliche Bestandteile mit dem abgegebenen Wasser herausdiffundieren, andererseits dringt das Salz und die zur Pökellake gemachten Zusätze mehr oder weniger tief in das Fleisch ein, entsprechend der Konzentration und der Zeitdauer der Einwirkung.

Die Salzgemische zum Pökeln und Einsalzen enthalten in erster Linie reichlich Chlornatrium, außerdem meist Salpeter und Zucker zur Konservierung der Fleischfarbe und schließlich Gewürze, wie Thymian, Wachholder, Pfeffer, Ingwer usw. Die früher erwähnte Erhaltung der roten Fleischfarbe ist eigentlich eine Wirkung der durch bakterielle Tätigkeit aus den Nitraten entstehenden Nitrite, die sich mit dem im Fleisch vorhandenen Blutfarbstoff in Stickoxyd-Hämoglobin umsetzen. Beim Kochen entsteht aus demselben dann Stickoxyd-Hämochromogen. In den Pökellaken findet immer eine Reduktion reichlicher Nitratmengen zu Nitrit statt.

Das Pökeln geschieht nun in der Weise, daß die Fleischstücke längere Zeit entsprechend ihrer Größe in eine Salzlösung eingelegt werden, die 12—27 Proz. Chlornatrium, 0,2—1 Proz. Kalisalpeter und etwa ebensoviel Zucker enthält. Die einzelnen Betriebe haben meist ihre eigenen Rezepte, nach denen sie arbeiten, so daß man in dieser Hinsicht große Verschiedenheiten findet. Infolge des Stoffaustausches zwischen dem Fleisch und der Lake tritt eine erheblichere Wertverminderung des Pökelfleisches gegenüber dem rohen Produkte auf. Die Haltbarkeit gut und salzreich gepökelten Fleisches ist aber sehr groß. Die Pökellaken selbst enthalten trotz der hohen Salzkonzentration, die übrigens bei öfterem Gebrauche ein und derselben Lake sehr erheblich abnimmt, eine ziemlich reiche Bakterienflora. Außerdem vertragen pathogene Bakterien und ihre Sporen ebenfalls sehr große Salzmengen, bei denen sie allerdings ihr Wachstum einstellen, bzw. nicht keimen, aber lange Zeit entwicklungsfähig bleiben. Ältere Laken scheinen trotz ihres geringeren Salzgehaltes keimärmer zu sein, was vielleicht seine Ursache in einer Zunahme von Extraktivstoffen aus dem Fleische und von Bakterienstoffwechselprodukten hat. Die gepökelten Fleischstücke werden in ihrem Innern um so weniger entkeimt, da in ihnen niemals der Salzgehalt solche Werte annimmt, wie sie in der sie umgebenden Lake herrschten.

Man hat auch Schnellpökelungsverfahren ersonnen, bei denen von großen Schlagadern aus den geschlachteten Tieren eine konzentrierte Salzlösung eingepreßt und so im Körper verteilt wird, oder dieselbe mit Injektionsspritzen zwischen die Muskulatur eingespritzt wird. Man bringt auch häufig die Fleischstücke in einen luftverdünnten Raum, um so dieselben rasch zu imprägnieren. Auch unter Anwendung von höheren Drucken wird oft gearbeitet; dabei kommt die Salzlake mit dem Fleisch in Kessel, in denen ein Überdruck von 3—4 Atmosphären herrscht.

Beim Einsalzen reibt man entweder die Fleischstücke öfter mit reinem Kochsalz oder einem Salzgemisch ein oder legt sie in große Fässer

und steinerne Behälter lagenweise ein. Zwischen die einzelnen Fleischlagen kommt eine dünnere odere dickere Schicht von Kochsalz mit etwas Salpeter. Das aus dem Fleisch austretende Wasser löst das Salz und führt so zur Bildung einer allerdings geringeren Menge einer Salzlake. Die Salzheringe werden in Tonnen mit Seesalz fest gepackt. Auch diese Art der Konservierung, der ebenfalls dieselben Mängel wie dem Pökeln anhaften, führt nicht zu einem keimfreien Produkte, da sich trotz des reichlichen Salzgehaltes zahlreiche Mikroben entwicklungsfähig erhalten und besondere halophile oder salzliebende Mikroorganismen sogar ausgiebig vermehren.

Von einer Besprechung der **Haltbarmachung durch Antiseptika** können wir füglich absehen, da der Zusatz der für diesen Zweck vorgeschlagenen Stoffe, wie Borsäure, Borax, Formaldehyd und schweflige Säure meist gesetzlich nicht gestattet ist. Anders verhält es sich mit denjenigen desinfizierender Stoffe, die durch die Lebenstätigkeit von Mikroorganismen erzeugt werden. An dieser Stelle sei an die früher besprochene Herstellung der Gemüsekonserven durch Essig- und Milchsäure bildende Bakterien erinnert. Auch der Äthylalkohol spielt in dieser Hinsicht eine große Rolle, dessen antiseptische Wirkung vielfach in der Konservierungstechnik angewendet wird. Auch Fische werden mitunter durch bakterielle Produkte konserviert. Eine solche Fischkonserve sind die „Gärfische“, die im nördlichen Schweden aus verschiedenen Fischsorten unter Salzzusatz hergestellt werden. Sie werden durch Gärenlassen der Gärströmlinge in größeren Fässern in einer wenig Kochsalz enthaltenden Lake in der Sonne bereitet. Dabei muß der Verlauf der Gärung kontrolliert und bei zu stürmischem Einsetzen derselben das Faß an einen kühleren Ort gebracht werden. Nach 4—5 Wochen ist die Konserve fertig und kommt mit der Lake, in kleinere Fäßchen gepackt in den Handel. In diesem Zustande halten sich die Gärfische ziemlich lange. Sobald das Fäßchen aber eröffnet ist, müssen sie rasch verzehrt werden, da sie alsbald dem Verderben unterliegen. Sie besitzen einen äußerst scharfen Geruch und Geschmack, der sie vielen Menschen ekelhaft macht. Es handelt sich bei diesen Fischkonserven eigentlich um eine Art gefaulter Masse, in der sich auch zahlreiche Fäulnisprodukte nachweisen lassen, unter denen aber Indol, Skatol, Phenol, Kadaverin und Putreszin fehlen. Daher kann man auch nicht kurzweg diesen Zersetzungsprozeß als „Fäulnis“ bezeichnen. Derselbe verläuft unter Gasbildung. Das Gasgemisch besteht aus Methylmerkaptan, Kohlensäure und Schwefelwasserstoff, weshalb diese Konserve auch stinkt. Im fertigen Produkt findet man zahlreiche flüchtige und nichtflüchtige Fettsäuren, dann Trimethylamin, Dimethylamin, Methylamin, Ammoniak, Leuzin, Cholin und Spuren von Äthylalkohol und Azeton.

Für die Herstellung kürzere Zeit hindurch haltbarer Nahrungsmittel bedient man sich der zusammengesetzten Konservierungsmethoden, die besonders im Hanshalte immer Anwendung finden. Hier handelt es sich um keine eigentlichen Konserven mehr, sondern um eine Haltbarmachung für nur wenige Tage. Gewöhnlich bewahrt man die gekochten Speisen in der Kälte auf. Das Kochen besorgt die Vernichtung aller vegetativen Mikroorganismenformen, während die Kälte die Entwicklung der restierenden keimfähigen Sporen und später während

der Aufbewahrung hineingelangten Mikroben verhindert. Für kurze Zeit genügen dafür die zwischen +4 und +6° liegenden Eiskastentemperaturen. Es werden zwar die Speisen bei der Aufbewahrung meist zugedeckt. Die verwendeten Deckel aber sorgen niemals für einen bakteriendichten Verschluß. Deshalb findet im Haushalte immer eine ausgiebige Infektion der aufbewahrten Speisen statt. Infolge der kurzen Aufbewahrungsdauer und der dabei herrschenden niederen Temperatur werden sich nur psychrophile Mikroorganismen ausgiebiger entwickeln, die aber kaum zum Verderben der Speisen führen und deren Tätigkeit für gewöhnlich gar nicht in Erscheinung tritt.

Von besonderer Bedeutung ist nun die Aufbewahrung und Haltbarmachung des neben Brot und Fleisch wichtigsten Nahrungsmittels, der **Milch**. Es werden Milchkonserven in zahlreicher Menge als kondensierte, homogenisierte und trockene Milch in den Handel gebracht. Diese für viele Zwecke sehr brauchbaren Dauermilcharten sind relativ keimarm, die homogenisierte Milch ist sogar als keimfrei zu bezeichnen. Ihres höheren Preises wegen sind sie an Stelle frischer Milch schon nicht allgemein gebräuchlich, abgesehen davon, daß infolge der Herstellung eine tiefgehende Veränderung der Milch herbeigeführt wird. Es ändern sich dabei die chemisch faßbaren Bestandteile zwar sehr wenig, wohl aber die Enzyme und andere in der frischen Milch vorhandene Stoffe, so daß die aus den Milchkonserven hergestellte Gebrauchsmilch nicht mehr einer frischen Milch gleichkommt. Für die Ernährung der Erwachsenen spielt dies nur eine untergeordnete Rolle, für die des Säuglings aber die allergrößte.

Nachdem leider in unserer Zeit ohne jeden zwingenden Grund in vielen Fällen die Mütter ihre Kinder überhaupt nicht stillen, wird die „künstliche Ernährung“ der Säuglinge nur zu oft notwendig. Anerkanntermaßen eignet sich dafür die Tiermilch, wenn sie auch nie und nimmer einen auch annähernden Ersatz für die Frauenmilch zu liefern vermag. Die Haltbarmachung der Säuglingsmilch für die nächsten 24 bis 36 Stunden ist nun von der größten Bedeutung. Dazu verwendet man im allgemeinen eine verhältnismäßig nur kurzdauernde Erhitzung, die ausschließlich zur Vernichtung von vegetativen Bakterienformen führt und dementsprechend auch etwa vorhandene menschenpathogene Mikroorganismen tötet, sofern sie sich nicht im Sporenstadium befinden. Dann wird eine möglichst kühle Aufbewahrung in entsprechenden Gläsern durchgeführt.

Von Planner-Wildinghof hat in einem sehr lesenswerten kleinen Büchlein „Das Kind, der Mutter Glück, der Mutter Sorge“, in klarer und gemeinverständlicher Weise unter anderem auch die Säuglingsmilch und ihre Aufbewahrung mustergültig behandelt. Nach ihm soll die Milch, selbstverständlich rein gewonnene, tadellose Kuhmilch, kühl zum Hause des Konsumenten transportiert werden. Die so einwandfrei gelieferte Milch muß nun von letzterem auch einwandfrei erhalten werden. Die ins Haus gebrachte Milch muß sofort abgekocht werden, indem sie bis zum einmaligen Aufwallen erhitzt wird. Dann ist dieselbe möglichst rasch durch Einsetzen des Topfes in fließendes, kaltes Wasser zu kühlen. Die abgekühlte Milch ist nun an einem kühlen, reinen Orte aufzubewahren, wofür sich am besten eine eigene Abteilung im Eisschrank eignet, die klein und von Eis rings umgeben ist. Man darf sie mit Speisen und anderen rohen Nahrungs-

mitteln nicht gemeinsam im Eisschrank kühl halten, da sie fremde Gerüche leicht annimmt und der gewöhnliche große Eiskastenraum auch zu wenig tief temperiert ist. Am einfachsten ist es, das Gefäß mit der Milch direkt in das Eis des Kastens einzustellen. Im Winter muß man darauf achten, daß die Milch nicht einfriert, da sie dadurch sehr verändert wird. Im Sommer soll wohl immer zur Eiskühlung die Zuflucht genommen werden. Bei gänzlichem Eismangel kann man sich auch dadurch helfen, daß man die Milch nach dem Abkochen in eine sorgfältig mit heißem Wasser gereinigte, trockene, innen rillenfreie Flasche einfüllt und dann, wie oben angegeben, rasch kühlt und nun die Flasche mit schlechten Wärmeleitern wie Stroh u. dgl umgibt und an einem kühlen Orte vergräbt. Die Thermosflaschen, welche heute schon zu billigen Preisen erhältlich sind, eignen sich für die kurzdauernde Milchkonservierung ausgezeichnet. Man muß natürlich die nach dem Kochen in Eis gekühlte Milch in die ebenfalls gekühlte trockene Flasche umgießen und dieselbe bei tiefer Temperatur im Keller aufstellen. Durch ca. 16 bis 24 Stunden läßt sich die Milch sogar im Hochsommer auf diese Weise tadellos erhalten.



Fig. 96.

Von großer Bedeutung für die Haltbarkeit der Säuglingsmilch und Milch überhaupt ist das verwendete Kochgeschirr und Aufbewahrungsgefäß. Am besten eignen sich zum Kochen und Aufbewahren der Milch Töpfe aus Steingut, die ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Diese Gefäße müssen nach jedem Gebrauch sofort einer gründlichen Reinigung unterzogen werden. Zuerst werden dabei durch Spülen am Brunnen oder bei der Wasserleitung alle Milchreste entfernt und dann erst die Gefäße mit kochender Sodalösung gewaschen. Nach einer weiteren oftmaligen Spülung mit einem Leitungs- oder Brunnenwasser werden sie am besten auf Stäben aufgehängt, damit das Wasser ablaufen kann. Hier sei nochmals auf das über die Reinigung der Molkereigeräte Gesagte verwiesen (vgl. S. 194). Für die Verabreichung der Säuglingsmilch sollen aus diesen Gründen nur Flaschen verwendet werden, die Innen weder Kanten, Rinnen, Vorsprünge u. dgl. m. aufweisen noch Meßfurchen besitzen. In der Figur 96 sind von Planner-Wildinghof[1]) empfohlene und anerkannt ausgezeichnete Trinkflaschen für Säuglinge abgebildet, wie sie nach dem Reinigen auf einem zweck-

1) Die Abbildung stammt aus dem früher zitierten Buche des genannten Autors.

mäßigen Abtropfbrett zum Trocknen aufgehängt sind. Dieselben weisen im Innern die früher geschilderten Mängel schlechter Milchgläser nicht auf und besitzen überdies einen halbkugeligen Boden, welcher jedes Hinstellen unmöglich macht. Dies kann nur als besonderer Vorteil betrachtet werden, weil dadurch ein Herumstehenlassen gebrauchter Flaschen vermieden wird. Solche Flaschen erzeugt die Firma C. Stölzels Söhne in Wien.

Die durch einmalige Erhitzung, Kühlung und Kaltaufbewahrung haltbar gemachte Milch muß unmittelbar vor dem Genusse nochmals aufgekocht werden. Sie darf dabei ebenfalls nur einmal aufwallen.

Sehr geeignet für die Frischhaltung der Milch ist auch der Sterilisierapparat von Soxhlet. In demselben soll die Milch nur solange kochen, bis sie in den Fläschchen einen Waller gemacht hat. Die frische, eben ins Haus gelangte Milch wird in die für den Säugling passenden Portionen abgeteilt und in Gläser gefüllt. Dieselben werden mit einer geschlitzten Kautschukkappe verschlossen. Der Verschluß ist demjenigen Stutzers, der auf S. 157 abgebildet und beschrieben ist, sehr ähnlich. Die Milch muß natürlich auch in diesem Falle nach dem Kochen rasch in fließendem kalten Wasser gekühlt und kühl aufbewahrt werden. Daß beim Betrieb dieses Apparates dieselbe Reinlichkeit herrschen muß wie sonst, braucht wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden.

Wie wir schon früher bei der Besprechung der außerordentlich lange haltbaren Fleischkonserven in Büchsen hörten, muß eine völlige Keimfreiheit verlangt werden. Nur dann ist ein Verderben wirklich ausgeschlossen. Die bakteriologische Untersuchung von solchen Fleischkonserven hat aber ergeben, daß immer eine Anzahl von Konserven bakterienhaltig ist. Die vorgefundenen Arten führen meist über kurz oder lang zu einem Verderben des Inhaltes. In der Regel verrät schon das Aussehen der Büchsen den infizierten und verdorbenen Inhalt. Die meisten aus Konserven gezüchteten Bakterien sind anaërobe Gasbildner und das von ihnen erzeugte Gas führt zur sog. „Bombage“ der Büchsen. Letztere werden in diesem Falle besonders am Boden und Deckel mehr oder weniger stark aufgetrieben. Beim Eröffnen spritzt eine solche Konserve kräftig aus dem angebrachten Loch und es entströmt ihr bei vorgeschrittener Zersetzung meist ein penetranter Gestank. Man findet aber auch besonders bei Sardinen stark bombierte Büchsen, deren Inhalt kaum verändert aussieht, höchstens etwas trockener ist und kaum einen irgendwie auffälligen Geschmack aufweist. Trotzdem muß als Regel ohne Ausnahme gelten, jede bombierte Konserve als verdorben und genußunfähig zu bezeichnen und aus diesen Gründen zurückzuweisen. Der Genuß verdorbener Fisch- und Fleischkonserven kann zu außerordentlich schweren und oft tödlichen Erkrankungen führen, weshalb nur irgendwie verdächtige Konserven nicht mehr genossen werden dürfen.

Überhaupt sind **Bakteriengifte in Nahrungsmitteln**, die von Tieren stammen, keine allzuseltene Erscheinung. Es stehen auch hier an der Spitze die Vergiftungen durch Fleischwaren. Dieselben können in zwei große Gruppen entsprechend der Wirkung auf den Organismus unterschieden werden.

Bei der ersten Gruppe der Fleischwarenvergiftungen treten nervöse Erscheinungen in den Vordergrund, indem das dieselben

bedingende Bakteriengift die Nervenzentren heftig angreift. Hierher gehören die Wurstvergiftungen. Ähnliche oder gleiche Erscheinungen werden aber auch oft nach dem Genusse von Schinken usw. gefunden. Der Magen-Darmtrakt wird von diesen Bakterien und ihren Giften nicht weiter irritiert, während Lähmungen, Sehstörungen, Schlingbeschwerden usw. das Krankheitsbild beherrschen. Meist tritt ein tödlicher Ausgang der Krankheit ein. Dieselbe bezeichnet man kurzweg als **Botulismus** oder Allantiasis. In dieselbe Kategorie von Erkrankungen gehört auch der Ichthyosismus oder die Fischvergiftung, deren Auftreten besonders nach dem Genusse gesalzener Fische beobachtet wird. Wie schon angedeutet, handelt es sich bei diesen Erkrankungen um reine Vergiftungen, die durch Bakterientoxine hervorgerufen werden. Die Bakterien selbst haben aber nicht die Fähigkeit, sich im Tierorganismus während des Lebens zu vermehren. Sie sind also für den Menschen nicht infektiös oder pathogen, sondern erzeugen bei ihrem anaëroben Wachstum in Nahrungsmitteln das Gift, nach dessen Genuß in kleinsten Mengen schon die Erkrankung eintritt. Mit Van Ermengem kann man diese Gruppe von Bakterien als „toxigene Saprophyten" bezeichnen. Sie sind auch keine Fäulniserreger, die irgendwelche tiefe Veränderungen des Nährbodens herbeiführen. Man hat nun aus solchen vergiftenden Nahrungsmitteln sporenbildende Bakterienarten rein gezüchtet, die einander sehr nahe stehen oder besser als eine Gruppe: Bacillus botulinus, angesprochen werden. Es sind anaërobe Stäbchenbakterien mit endständigen Sporen, die sich am besten bei 23—25° C entwickeln.

Bei diesen Temperaturen, in leicht alkalischen Nährsubstraten gezüchtet, vermehrt sich Bacillus botulinus gut und erzeugt sein furchtbares Gift, während die geringste Menge freier Säure sein Wachstum gänzlich unterdrückt. Auch ein Kochsalzgehalt von 5—7 Proz. verhindert jede Vermehrung. Die Sporen des Bacillus botulinus sind nicht besonders widerstandsfähig, da eine einstündige Erwärmung auf 80° dieselben schon sicher vernichtet.

Das Botulinustoxin ist außerordentlich giftig und wirkt sowohl in die Blutbahn oder unter die Haut gebracht, als auch vom Magen aus. Alkalien zerstören dasselbe rasch und in geringen Konzentrationen, denn der Zusatz einer 3proz. Sodalösung macht es augenblicklich unwirksam. Säuren sind weniger wirksam. Eine Temperatur von 80°, durch ½ Stunde angewendet, macht es unwirksam.

Die Verhütung des Botulismus ist insofern leichter zu erreichen, als man nur jeden Genuß von rohen Nahrungsmitteln unterläßt, die günstige Bedingungen für die Entwicklung dieser Anaërobier aufweisen. Dies gilt ganz besonders für Schinken, Leber- und Blutwurst oder besser überhaupt Würste, Büchsenkonserven, Salzfische usw.

Die zweite Gruppe von Fleischvergiftungen ist gekennzeichnet durch die den Magen-Darmkanal betreffenden schweren Krankheitserscheinungen. Es kommt dabei zu einer heftigen Magendarmentzündung, die oft tödlich verläuft. Fleisch, welches solche Vergiftungen verursacht, zeigt meist gar keine oder höchst geringe Fäulniserscheinungen. Erst sehr spät kommt es zu einer typischen Fäulnis. Bacterium vulgare ist ein Erreger dieser Art von Vergiftung. Er entwickelt sich auch im Organismus der Erkrankten und erzeugt

vorwiegend Endotoxine, die erst beim Absterben dieses Mikroben in die Säftebahn gelangen und zur Vergiftung führen. Diese Toxine sind sehr wenig kochfest und werden schon nach kurzen Erhitzungen unwirksam. Die Vertreter der Gruppe Bacterium vulgare kommen durch nachträgliche Infektion in das gesund geschlachtete Fleisch. Verwandte des Bacillus coli, Bacillus paratyphosus, Bacillus enteritidis und ihnen nahe stehende Arten finden sich immer im Fleisch krank geschlachteter Tiere und erzeugen ebenfalls die oben genannten Krankheitserscheinung. Auch diese Arten vermehren sich im Organismus und erzeugen dort Ekto- und Endotoxine, welche aber auch im befallenen Fleisch reichlich gebildet werden. Dabei kommt es durchaus zu keiner Fäulnis. Diese Toxine sind sehr hitzebeständig und scheinen sogar durch kurzes Kochen nicht zerstört zu werden.

Ob die schwer verlaufende und meist tödliche Muschelvergiftung auf die Bildung des Ptomaines Mytilotoxin allein zurückzuführen ist oder auch Bakterientoxine dabei eine besondere Rolle spielen, ist noch nicht sichergestellt. Wahrscheinlich macht letztere Ansicht der Befund von Vertretern der Coli- und Proteusgruppe bei solchen Vergiftungen.

Literatur zur Vorlesung XXIII.

Rost, E., Die Haltbarmachung des Fleisches. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 2, S. 389.

von Wildinghof-Planner, K., Das Kind, der Mutter Glück, der Mutter Sorge. Graz-Wien 1910.

Hahn, M. und Spieckmann, A., Bakteriengifte in Nahrungsmitteln. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 3, S. 117.

van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. Handb. d. pathogenen Mikroorganismen, Bd. 2, S. 637.

VIERUNDZWANZIGSTE VORLESUNG.

System der Bakterien.

Von jeher hat die Aufstellung eines Systems der Bakterien große Schwierigkeiten bereitet und auch heute noch haben wir kein solches, das allen wissenschaftlichen Ansprüchen gerecht würde. Die rein morphologischen Merkmale gestatten allerdings eine Gruppierung der Spaltpilze, für die Auseinanderhaltung der Arten reichen dieselben aber kaum aus. Auch die verwandtschaftlichen Beziehungen untereinander und zu den Arten der übrigen tierischen und pflanzlichen Organismen kommt darin gar nicht zum Ausdrucke. In neuester Zeit wurde nun auf Grund bestimmter physiologischer Eigenschaften ein natürliches System der Bakterien von O. Jensen zu schaffen versucht, das auf morphologische Charaktere gar keine Rücksicht nimmt, dafür aber die Verwandtschaft und Abfolge des Auftretens der Ordnungen scharf hervorhebt.

Das neben den von Alfred Fischer, Messea und Lehmann und Neumann aufgestellten Bakteriensystemen gebräuchlichste ist das

System von W. Migula,

auf das wir zunächst genauer eingehen wollen. Es berücksichtigt ausschließlich die morphologischen Kennzeichen der Arten. Im folgenden sei dasselbe mit einigen den neuen Forschungen entsprechenden Abänderungen und Ergänzungen wiedergegeben. Nach demselben zerfallen die gesamten Bakterien in drei Ordnungen mit zahlreichen Familien und Gattungen.

Bacteria.

Einzellige, phykochromfreie Spaltpflanzen, deren Zellen sich nach einer, zwei oder drei Richtungen des Raumes durch Spaltung teilen. Zahlreiche Arten produzieren Dauerformen als endogene Sporen oder sporoide Körperchen, die über eine Reihe bestimmter Entwicklungszustände ausgebildet werden. Die Vermehrung der Art seßhafter Formen besorgen bewegliche und unbewegliche Konidien. Die Vertreter vieler Gattungen zeigen Eigenbeweglichkeit, die auf Geißeln zurückgeht oder in einigen wenigen Fällen ohne besondere Einrichtungen zu erfolgen scheint.

I. Ordnung: **Eubacteria.**

Zellen ohne Zentralkörper, ohne Schwefeleinschlüsse und Bacteriopurpurin, meist farblos oder in seltenen Fällen schwach gefärbt.

1. Familie: **Coccaceae** (Zopf) Mig.

Zellen in freiem, ruhendem Zustande kugelig, während der Teilung mitunter etwas elliptisch.

1. Gattung: Streptococcus Billroth. Die stets unbeweglichen Zellen teilen sich immer nur nach einer Richtung des Raumes, wodurch beim Zusammenlagern der Teilungsprodukte perlschnurartige Wuchsverbände zustande kommen.

2. Gattung: Micrococcus (Hall.) Cohn. Die immer unbeweglichen Zellen vermehren sich durch Teilung nach zwei Richtungen des Raumes. Dementsprechend entstehen täfelchenartige Wuchsverbände.

3. Gattung: Sarcina Goods. Die stets unbeweglichen Zellen teilen sich nach drei Richtungen des Raumes, wodurch beim Verkleben der Teilungsprodukte warenballenartige, regelmäßige Wuchsverbände entstehen.

4. Gattung: Planococcus n. g. Die Zellen teilen sich nach zwei Richtungen des Raumes, wie diejenigen der Gattung Micrococcus, sind aber beweglich.

5. Gattung: Planosarcina n. g. Die Teilung erfolgt wie bei der Gattung Sarcina nach drei Richtungen des Raumes. Die Zellen sind aber begeißelt.

2. Familie: **Bacteriaceae.**

Die Zellen besitzen eine Längsachse, sind zylindrisch, meist gerade oder in der Ebene gebogen und teilen sich immer senkrecht zur Längsachse nach voraufgegangener Längsstreckung.

1. Gattung: Bacterium. Die Zellen besitzen keine Bewegungsorgane und bilden oft Endosporen.

2. Gattung: Bacillus. Die Zellen sind peritrich begeißelt und bilden häufig Endosporen.

3. Gattung: Pseudomonas. Die Zellen tragen am Pole Geißeln. Eine Endosporenbildung findet sich bei ihnen selten.

3. Familie: **Spirillaceae.**

Die Zellen sind schraubig gekrümmt oder stellen Teile eines Schraubenumganges vor. Die Teilung derselben erfolgt nach einer Längsstreckung senkrecht zur Windungsrichtung.

1. Gattung: Spirosoma n. g. Zellen ohne Bewegungsorgane.

2. Gattung: Microspira. Die Zellen tragen meist eine, seltener zwei bis drei polare, wellig gebogene Geißeln.

3. Gattung: Spirillum. Die Zellen entsprechen meist einem oder mehreren Schraubenumgängen und besitzen ein polar sitzendes Büschel von zahlreichen Geißelfäden. Endosporenbildung ist sehr selten zu beobachten.

4. Familie: **Chlamydobacteriaceae.**

Die zylindrischen Zellen sind zu Fäden vereint, die von einer mehr oder minder dicken, gemeinsamen Scheide umschlossen sind. Die Verbreitung der Art besorgen bewegliche oder unbewegliche Konidien, zu denen sich die Zellen entweder unmittelbar oder nach vorangegangenen,

besonderen Teilungen umbilden. Ohne Ruheperiode gehen aus den Konidien durch Spaltungsvermehrung neue Zellfäden hervor.

1. Gattung: Chlamydothrix n. g. Die zylindrischen Zellen sind unbeweglich und zu unverzweigten Fäden vereinigt, die keinen Unterschied von Basis und Spitze aufweisen. Die Scheiden der Fäden sind dünn und speichern oft Eisen.

2. Gattung: Crenothrix Cohn. Seßhafte, fadenbildende Bakterien ohne Verzweigungen und mit Gegensatz von Basis und Spitze. Die Scheiden sind derb und speichern häufig große Mengen von Eisen. Die Teilung der Vegetationsfadenglieder erfolgt nach einer Richtung senkrecht zur Fadenachse. Bei der Konidienbildung treten Teilungen nach drei Richtungen des Raumes auf und die dabei entstandenen Teilungsprodukte runden sich ab.

„3. Gattung: Phragmidiothrix Engler. Zellen, anfangs zu unverzweigten Fäden verbunden, sich nach drei Richtungen des Raumes teilend und so einen Zellstrang darstellend. Später können einzelne Zellen durch die sehr feine und eng anliegende Scheide hindurchwachsen und zu Verzweigung Veranlassung geben."

4. Gattung: Sphaerotilus einschl. Cladothrix. Die Zellen sind zylindrisch und in dünnen Scheiden zu dichotom verzweigten Fäden vereinigt, die keinen Gegensatz von Basis und Spitze aufweisen. Die Scheiden speichern mitunter wenig Eisen. Die Verbreitung erfolgt durch Schwärmkonidien, die sich am Fadenende aus vegetativen Zellen durch Abrundung und Hervortreiben eines subpolaren Geißelbüschels umbilden. Nach dem Ansetzen der Konidien an eine Unterlage entsteht aus ihnen ein neuer Zellfaden.

II. Ordnung: **Rhodobacteria**[1]).

Zellen kugel-, stäbchen- oder schraubenförmig. Der Zellinhalt durch Bacteriopurpurin und durch Bacteriochlorin rosa, rot, violett oder karminrot gefärbt.

1. Familie: **Thiorhodaceae.**

Die Zellen lagern in ihrem Protoplasma freien Schwefel in Form von größeren und kleineren Kügelchen ab.

1. Unterfamilie: **Thiocapsaceae.**

Die Zellen sind zu Wuchsverbänden vereinigt und teilen sich nach drei Richtungen des Raumes.

1. Gattung: Thiocystis Winogradsky. Die Zellen besitzen ein Schwärmstadium, die Wuchsverbände sind klein, dicht, einzeln oder zu mehreren von einer Gallertmasse umschlossen.

„2. Gattung: Thiocapsa Winogradsky. Familien auf dem Substrat flach ausgebreitet, aus kugeligen, in gemeinsamer Gallerte locker eingebetteten, nicht schwärmfähigen Zellen gebildet."

1) Nach den Untersuchungen von Molisch ergänzt wiedergegeben. Die zwischen Anführungszeichen stehenden Sätze sind aus dem System von Migula in Lafar's Handb. d. techn. Mykol., Bd. 1, S. 144 entnommen.

„3. Gattung: Thiosarcina Winogradsky. Familien paketförmig, nicht schwärmfähig, der Gattung Sarcina unter den Eubakterien entsprechend".

2. Unterfamilie: **Lamprocystaceae.**

Die Zellen sind zu Wuchsverbänden vereinigt. Die Teilung erfolgt zuerst nach drei, später nach zwei Richtungen des Raumes.

1. Gattung: Lamprocystis Schröter. Die Wuchsverbände sind zuerst vollkugelig, dann hohlkugelig, netzartig durchbrochen. Später zerfallen dieselben in kleine schwärmfähige Gruppen.

3. Unterfamilie: **Thiopediaceae.**

Die in Wuchsverbänden vereint bleibenden Zellen teilen sich nach zwei Richtungen des Raumes.

„1. Gattung: Thiopedia Winogradsky. Familien tafelförmig aus quaternär geordneten schwärmfähigen Zellen zusammengesetzt."

4. Unterfamilie: **Amoebobacteriaceae.**

Die Teilung der Wuchsverbände bildenden Zellen erfolgt nach einer Richtung des Raumes.

„1. Gattung: Amoebobacter Winogradsky. Zellen zu Familien vereinigt, nach einer Richtung des Raumes sich teilend. Familien amöboid beweglich, Zellen durch Plasmafäden verbunden."

„2. Gattung: Thiotece Winogradsky. Familien mit dicken Gallertzysten. Zellen in gemeinsamer Gallerte sehr locker eingelagert, schwärmfähig."

„3. Gattung: Thiodictyon Winogradsky. Familien aus stäbchenförmigen, mit ihren Enden zu einem Netz verbundenen Zellen bestehend."

„4. Gattung: Thiopolycoccus Winogradsky. Familien solid, unbeweglich, aus kleinen, dicht zusammengepreßten Zellen bestehend."

5. Unterfamilie: **Chromatiaceae.**

Die Zellen sind frei und zeitlebens schwärmfähig.

„1. Gattung: Chromatium Perty. Zellen zylindrisch-elliptisch oder elliptisch, verhältnismäßig dick."

„2. Gattung: Rhabdochromatium Winogradsky. Zellen frei, stab- und spindelförmig, zeitlebens schwärmfähig, mit Geißeln an den Polen."

3. Gattung: Thiorhodospirillum. Die Zellen sind spiralig gewunden.

6. Unterfamilie: **Rhodocapsaceae.**

Zellen nicht oder nicht zeitlebens schwärmfähig mit Schwebekörperchen und Kapselbildung.

1. Gattung: Rhodocapsa Molisch. Die stäbchenartigen Zellen sind entweder in Kapseln bewegungslos oder ohne Kapsel schwärmend.

2. Gattung: Rhodothece Molisch. Die in Schleimkapseln eingeschlossenen kugeligen Zellen besitzen kein Schwärmstadium.

2. Familie: **Athiorhodaceae.**

Die Zellen speichern niemals Schwefel in Form von Kügelchen in ihrem Protoplasma und leben entweder in Familien vereinigt oder frei.

1. Unterfamilie: **Rhodocystaceae.**

1. Gattung: Rhodocystis Molisch. Die Zellen besitzen Stäbchenform und sind in großer Anzahl in einer gemeinsamen Schleimhülle eingebettet.

2. Gattung: Rhodonostoc Molisch. Die Zellen sind rund oder stäbchenförmig und bleiben in Kettenverbänden vereinigt, die von einer Schleimhülle umgeben sind.

3. Gattung: Rhodococcus Molisch. Die Zellen sind kugelig, unbeweglich, teilen sich nach einer Richtung des Raumes und bilden keine Wuchsverbände.

4. Gattung: Rhodobacterium Molisch. Die Zellen sind gerade, unbewegliche Stäbchen und erzeugen keine zusammenhängenden Wuchsverbände.

5. Gattung: Rhodobacillus Molisch. Die beweglichen Zellen haben Stäbchenform und sind nicht in Familien vereinigt.

6. Gattung: Rhodovibrio Molisch. Die lebhaft beweglichen Zellen sind kurz, bohnen- oder kommaartig gekrümmt und haben eine endständige Geißel. Familienvereinigungen fehlen.

7. Gattung: Rhodospirillum. Die Zellen sind schraubig gekrümmt, tragen polar mehrere Geißeln oder ein Geißelbüschel und bilden keine Wuchsverbände.

III. Ordnung: **Thiobacteria.**

Die Zellen haben keinen Zentralkörper, sind farblos und führen Schwefeleinschlüsse in Form von größeren und kleineren Kügelchen.

1. Familie: **Beggiatoaceae.**

Die zylindrischen Zellen sind zu fadenförmigen Wuchsverbänden vereinigt.

„1. Gattung: Thiothrix Winogradsky. Unverzweigte, in feine Scheiden eingeschlossene, unbewegliche, festgewachsene Fäden mit Teilung der Zellen nach einer Richtung des Raumes. Am Ende der Fäden entstehen Stäbchenkonidien mit kriechender Eigenbewegung.“

„2. Gattung: Beggiatoa Trevisan. Scheidenlose Fäden aus flachscheibenförmigen Zellen gebildet, nach Art der Oscillarien kriechend und um die Achse rotierend beweglich, frei. Konidien nicht bekannt.“

2. Familie: **Thiobacteriaceae.**

Die Zellen besitzen Kugel-, Stäbchen- oder Schraubenform und bilden keine bescheideten Fadenverbände.

1. Gattung: Thiophysa Hinze. Die Zellen sind kugelig und unbeweglich.

2. Gattung: Thiobacterium Molisch. Die Zellen sind unbeweglich und besitzen Stäbchenform.

3. Gattung: Thiobacillus Molisch. Die stäbchenförmigen Zellen sind beweglich.

4. Gattung: Thiospirillum Molisch. Die Zellen haben Schraubenform und tragen ein polares Geißelbüschel.

Die drei letztgenannten Gattungen, die nur wenige Arten umfassen, wie wir früher hörten (S. 298), sind vollends neu aufgestellt und dafür

insofern neue Namen genommen, als Molisch die hierher gehörenden Arten anders benannte. So mußte sein schwefelführendes Bacterium Bovista in Thiobacterium Bovista Molisch, der Bacillus thiogenus in Thiobacillus und seine beiden Spirillen in Thiospirillum umgetauft werden. Im ursprünglichen System von Migula finden wir den Namen Thiospirillum für jene schwefelführenden Spirillen verwendet, die gleichzeitig Bakteriopurpurin enthalten. In der obigen neuen Fassung ist für diese Gattung der Name Rhodothiospirillum neu eingeführt. In dem von Migula aufgestellten System sind die Spirochäten als 4. Gattung der Spirillaceae aufgeführt. Dieselben erscheinen hier überhaupt nicht mehr, da sie gewiß nicht zu den Eubakterien gehören und den tierischen Protisten, in Sonderheit den Flagellaten viel näher stehen. Hier wurden die Purpurbakterien als II. Ordnung der III. Ordnung Schwefelbakterien gleichgestellt, obwohl es auch zahlreiche schwefelführende Purpurbakterien gibt. Der Besitz des in der Physiologie der Purpurbakterien eine so eigenartige Rolle spielenden Bakteriopurpurin ist so charakteristisch, daß sie mit Recht in eine besondere Ordnung eingereiht werden.

Wie schon eingangs bemerkt wurde, hat man in neuerer Zeit auch den Versuch gemacht, auf rein biochemische Eigenschaften hin ein natürliches System der Bakterien aufzustellen. Wenn auch eine Reihe von Bakterien durch ganz spezielle biochemische Leistungen auffällt, so ist es keineswegs ausgemacht, daß diese Eigenschaften so konstant sind, um zu einer Systemaufstellung die Grundlage zu bilden. Vorläufig erscheint es demnach zweckmäßiger, die morphologischen Charaktere, die sich, wie Sporenbildung, Begeißelung, Teilungserscheinungen, Ablauf der Formen bei der Entwicklung, also Entwicklungskreise u. dgl., als konstant erweisen, zum Aufbau des Systems zu benutzen.

Die Verwendung einer Reihe physiologischer und biochemischer Merkmale ist allerdings vorläufig nicht ganz zu umgehen, so daß alle existierenden Bakteriensysteme nicht absolut einheitlich durchgeführt sind. Das früher gegebene System der Bakterien läßt auch die verwandtschaftlichen Beziehungen der Bakterien untereinander keineswegs erkennen.

Orla Jensen und Kruse haben den Versuch gemacht, im System die Stammesgeschichte und verwandtschaftlichen Beziehungen der Bakterien untereinander und mit den ihnen nahestehenden Organismen zum Ausdrucke zu bringen. Daß dazu biochemische Leistungen in reichem Maße benützt erscheinen, bzw. bei Jensen die Grundlage abgeben, ist leicht einzusehen, da wir über die Entwicklungskreise der Bakterien, die berufen sind, in dieser Hinsicht Klarheit zu bringen, noch viel zu wenig kennen. Dieselben werden später vielleicht auch die verwandtschaftlichen Beziehungen zu den übrigen Mikroorganismen klären.

Die Bakterien stehen einerseits niederen Pflanzen sehr nahe und andererseits tierischen Protisten. Von Pflanzen kommen die Spaltalgen und dann auch die Pilze in Betracht, während von tierischen Protozoën Flagellaten und Chlamydomonadinen genannt werden müssen.

Die Bindeglieder zwischen Bakterien einerseits und Spaltalgen andererseits haben wir noch keineswegs, die eigentliche Übergangsform fehlt hier. Zwischen Askomyzeten und Bakterien sind die Saccharomyzeten und Schizosaccharomyzeten Binde-

glieder. Dies gilt besonders für letztere, die sich ebenfalls durch Spaltung teilen. Übrigens sind die Unterschiede zwischen letzteren und den Bakterien nicht so groß, als vielfach angenommen wird, wenn wir von den Bewegungsorganen absehen, die wir allerdings bei den Askomyzeten vermissen. Wir finden dafür in der Sporenbildung und im Zellkerne Übereinstimmungen, die gewiß auf nahe verwandtschaftliche Beziehungen hindeuten.

Die nächsten Beziehungen haben die Bakterien nun mit den Flagellaten, mit denen sie besonders im Bewegungsapparat übereinstimmen. Ausgesprochene Übergangsformen finden wir aber auch hier nicht. Die Spirochäte vermag den Übergang gewiß nicht herzustellen, da sie den tierischen Protisten bereits zu sehr genähert ist.

FÜNFUNDZWANZIGSTE VORLESUNG.

Der feinere Bau der Hefepilze.

Auch bei der Hefe finden wir alle jene schon bei den Bakterien genannten Bestandteile wieder, die eben den Begriff Zelle ausmachen. Demnach besteht die vegetative Hefezelle aus einem mit verschiedenen Einschlüssen versehenen, kernhältigen Protoplasmaklümpchen, das von einer mehr oder weniger dicken Zellhaut umgeben ist.

Wir wollen uns zunächst mit den morphologischen Verhältnissen der Hefepilze befassen und dann deren chemische Zusammensetzung erörtern.

Die Hefepilze treten uns in ziemlich variabler **Form** entgegen. Im allgemeinen gleicht dieselbe einer Kugel oder einem kurzen oder gestreckten Ellipsoid oder einem Ei oder endlich einer Zitrone. Die Form erfährt aber bei der Entwicklung mannigfache Veränderungen entsprechend dem Entwicklungszustand der Zelle und den äußeren Bedingungen. Es sei nur hier vorläufig an die wurstförmigen Zellen erinnert, die sich in den Sproßmyzelien an der Oberfläche von Flüssigkeitskulturen ausbilden. Unsere Figur 97 zeigt uns die typischen Grundformen, auf die die Formen der Hefezellen zurückgehen. In *A* dieser Figur sehen wir im optischen Schnitt die Kreisform, in *B* das Ellipsoid, in *C* die Eiform, in *D* die Zitronenform und in *E* und *F* die mehr zylindrischen, unregelmäßigen Gestalten, die sich besonders bei den Spalthefen finden. *G* der Figur 97 führt uns endlich ein Stück eines

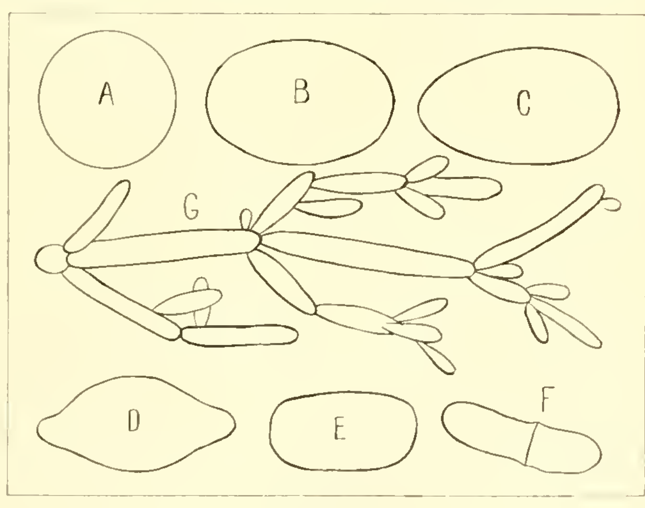


Fig. 97.

Sproßmyzels vor Augen, in dem neben kürzeren, ovalen Zellen auch längere, wurstförmige Gebilde vorkommen, wie sie sich in allen durch Hefezellen hervorgebrachten Kahmhäuten einstellen. Alle genannten Formen sind auch hier durch eine lückenlose Reihe von Übergangsformen miteinander verbunden, so daß eine Unterscheidung der Arten auf Grund der Zellformen allein wohl in den meisten Fällen unmöglich ist.

Gegenüber den meisten Bakterien sind die Hefezellen als sehr groß zu bezeichnen. Die **Größe** der einzelnen Zellen unterliegt aber sehr bedeutenden Schwankungen, so daß wir in ein und derselben selbst jungen Kultur große Unterschiede in dieser Hinsicht wahrnehmen. Dies beobachten wir auch in jedem Sproßmyzel, also in jeder Hautbildung, wie schon *G* der Figur 97 zur Genüge erkennen läßt. Wenn wir für die Größe absolute Zahlenwerte anführen wollen, so dürfen wir bei den einzelnen Arten nur Durchschnittsgrößen auf Grund zahlreicher Messungen gebrauchen und müssen genau wie bei den Bakterien über alle äußeren Bedingungen und die Ernährungsverhältnisse eingehende Angaben beifügen, sofern die Messungen irgend einen Wert besitzen sollen. So beträgt der durchschnittliche größte Durchmesser der kurzen, ellipsoidischen Formen der Bierhefe 8—10 μ, während die Weinhefe im allgemeinen kleiner ist und einen kürzeren Durchmesser von durchschnittlich 4 μ und einen längsten von etwa 6 μ besitzt.

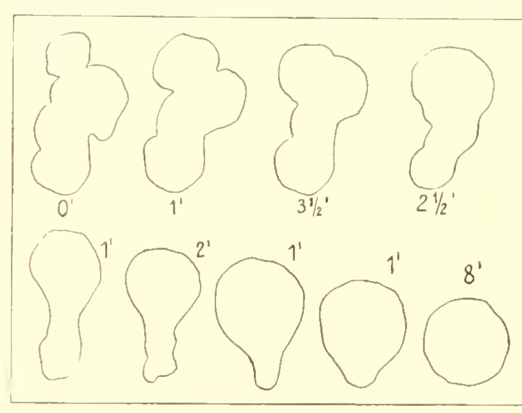


Fig. 98.

Die Hefezelle ist nun allseits von einer **Zellhaut** umgeben. Dieselbe stellt eine mäßig lichtbrechende und farblose Hülle dar, deren Dicke große Verschiedenheiten aufweist. Dieselbe kann unter pathologischen Verhältnissen so dünn werden, daß die Zelle den Eindruck eines nackten, amöboid beweglichen Protoplasmas macht, das in der Tat seine Gestalt verändert und unter Bildung von pseudopodienartigen Fortsätzen sich träge fortbewegt. Die Gestaltsveränderungen gehen in diesem Falle sogar ziemlich rasch vor sich, wie die nach Henneberg's Zeichnungen angefertigten und in Figur 98 wiedergegebenen Skizzen es zeigen. Die beigesetzten Zahlen geben die Minuten an, innerhalb welcher die Umwandlung einer Form in die andere erfolgte. In 20 Minuten fand der Übergang aus der links gezeichneten, lappigen Form zur reinen Kugelgestalt am Ende der Reihe statt. In diesem Falle scheint tatsächlich überhaupt keine Zellwand vorhanden gewesen zu sein. Es lag also ein nacktes Protoplasma vor, wie wir es an den Amöben sehen. Solche krankhaft veränderte Zellen starben allerdings nach kurzer Zeit.

Normalerweise hat die junge Sproßzelle oder Hefezelle überhaupt eine dünne Zellwand, deren Dicke im Mittel etwa ½ μ mißt. Für die Betriebshefe von Münchener Lagerbier hat es sich ergeben, daß

die Membran derselben bei der Zucht in konzentrierten Würzen eine Dicke von 0,7—0,9 μ erreicht. Ganz allgemein können wir sagen, daß die Membran junger Zellen dünn und im lebenden Zustande kaum zu beobachten ist, während sie mit dem Alter der Zellen an Dicke und Festigkeit zunimmt. Die sog. Dauerzellen des Heferinges besitzen besonders dicke Zellwände. Ein Hefering entsteht dort, wo die von den Zellen auf Nährflüssigkeiten gebildeten Kahmhäute an die Wand des Zuchtgefäßes grenzen. Im Hefering finden wir nun kugelige, vergrößerte Zellen, die Will eben als Dauerzellen bezeichnete. Die Dicke ihrer Haut schwankt zwischen 0,7 und 0,9 μ und erreicht oft auch 1 μ. An den Membranen der Dauerzellen hat nun Will zuerst eine Schichtung wahrnehmen können, die nach einer Salzsäurebehandlung besonders deutlich wird. Man sieht gewöhnlich zwei Schichten, kann mitunter aber auch eine Mehrschichtigkeit beobachten. Nach den Untersuchungen anderer Forscher besteht die Zellhaut der Hefe in jedem Alter aus zwei Schichten, einer inneren und äußeren, die nach einer Behandlung mit Chromsäure- oder Osmiumsäurelösung deutlich hervortreten.

Wenn die Zellhaut verdickt ist, lösen sich die äußeren Membranteile meist in Form von Schalen ab, was man an Dauerzellen



Fig. 99.

gut beobachten kann. In der von Will stammenden Figur 99 sehen wir drei Dauerzellen, von dem genannten Autor bei ca. 2000facher Vergrößerung abgebildet. Sie betreffen eine untergärige Bierhefe. In *a* ist eine Dauerzelle, gefüllt mit den später zu erörternden Öltröpfchen und Ölkörperchen, wiedergegeben, an der sich ein großer Teil der Haut abgeblättert hat. Diese Spaltung der Haut zeigt *b* noch besser, wo eine abgestorbene Dauerzelle abgebildet ist, deren Plasma klumpig zusammengeballt erscheint. In *c* endlich haben wir die Abbildung einer Dauerzelle, deren äußere Membranschicht sich ringsum abgelöst hat. Dieselbe erreicht eine Dicke bis zu 0,5 μ, während die innere Schicht meist erheblich dünner bleibt und auch dehnbarer und nachgiebiger ist. Dieses Schälen der Schichten tritt ganz besonders bei der Zucht der Hefe in Nährsalzlösungen ein, während diese Erscheinungen in Würzekulturen seltener zu beobachten sind.

An der Zellhaut der gesunden Hefezelle finden sich keine Lücken oder präformierte Öffnungen, wie es Bizzozero für die innerste Schicht angegeben hat. Diese scheinbaren Poren sind nichts anderes als kleine Narbenbildungen an jenen Stellen, wo sich Knospen oder Sprosse gebildet und abgeschnürt haben.

Die Zellmembran der Hefen wird von den meisten Anilinfarbstoffen nur äußerst schwierig und wenig gefärbt. Nur wenige, besonders zubereitete Farbstoffe machen in dieser Hinsicht eine Ausnahme.

Beim Untersuchen der Hefe in ungefärbten und noch besser in gefärbten Präparaten macht man häufig die Beobachtung, daß zwischen den Zellen eine Masse ausgebreitet ist, die dieselben wie ein Netzwerk einschließt. Die Substanz dieser Netzbildungen stammt entweder als schleimige Ausscheidung aus dem Zellinnern oder geht auf die verschleimten Zellwände zurück. Außerdem finden sich in derselben noch zahlreiche Einlagerungen aus der Nährflüssigkeit. Das „gelatinöse Netzwerk" Hansen's ist wohl in erster Linie auf eine Verschleimung der äußeren Zellhautpartien zurückzuführen. Nach den Beobachtungen von Will müssen die Netzbildungen, welche die Dauerzellen einschließen, ohne weiteres sichtbar sind und keine Eiweißreaktionen geben, von denjenigen aus älteren, schleimigen Kahmhäuten unterschieden werden, welche erst nach einer besonderen Präparation sichtbar werden und alle Eiweißreaktionen liefern. Hier sind auch noch jene häutigen Ausscheidungen zu nennen, welche an der Würzeoberfläche auftreten und in der Umgebung von Hefezellen ebenfalls Netzform annehmen, und endlich das „kristallinische Netzwerk". Diese Netzbildungen kommen ebenfalls entweder durch Verschleimung der Zellwände allein zustande oder unter Hinzutritt von schleimigen Ausscheidungen aus dem Zellinnern, abgesehen von den Einlagerungen in dieselben aus dem Kulturmedium. Ausgedehntere Verschleimungen der Zellwände finden sich auch an den Zellen der Riesenkolonien von Hefen, die sich im Innern derselben befinden.

Eine klebrige Beschaffenheit der Zellwände, die zu Flockenbildungen führt, beobachtet man jederzeit an den untergärigen Hefen, für die sie geradezu als charakteristisch gilt.

Der **Zellinhalt** der Hefe setzt sich aus einer Reihe von geformten und ungeformten Bestandteilen zusammen, wie wir es auch bei den Bakterien fanden.

Der Protoplasmakörper der Hefezellen zeigt einen mehr oder minder ausgeprägten, wabigen oder netzartigen Bau und eine körnige Struktur. Die der Zellhaut anliegende Schicht desselben erscheint homogen. Ein ähnliches Hautplasma umgibt auch in dünner Lage die kleinen und größeren, mit einem matten, dünnflüssigen Inhalt erfüllten Hohlräume im Plasma, die wir als Safträume oder Vakuolen bezeichnen. Im Protoplasma finden wir eine Reihe von geformten Einschlüssen, die wir kurzweg allgemein als Granula bezeichnen, und das von den Bakterien her schon bekannte Glykogen neben Fettropfen. Außerdem beherbergt das Protoplasma einen Kern.

Nach dem jeweiligen Zustand der Hefezelle ändert sich auch das Bild ihrer Inhaltsstoffe. Mit zunehmendem Alter der Zelle und Abnahme der Nährstoffe im Kultursubstrat und Ansammlung von Stoffwechselprodukten in demselben gehen Änderungen, besonders in bezug auf die Menge der geformten Einschlüsse und der Vakuolen einher. Auch die Art der Granula und die Menge der aufgestapelten Reservestoffe ändert sich.

In der Hefezelle findet man immer **Vakuolen**. Häufig beobachtet man eine zentral gelegene, große Vakuole, während kleinere Safträume

immer in größerer Anzahl vorhanden sind. Die Safträume sind gegen das schaumige Protoplasma scharf abgesetzt und enthalten, wie schon oben angedeutet, eine klare, mäßig lichtbrechende Flüssigkeit, in der häufig kleine kugelige oder seltener eckige Einschlüsse in kleinerer oder größerer Anzahl auftreten und sich darin lebhaft bewegen. Durch eine Jodbehandlung der Hefezelle gelingt es leicht, noch eine zweite Art von Hohlräumen im Plasma der Hefe zur Anschauung zu bringen, die man ihrem Zwecke gemäß kurzweg als Glykogenvakuolen bezeichnet. In ihnen wird nämlich das Glykogen gespeichert. Sie besitzen entweder eine kugelige Gestalt oder sind mehr scheibenförmig, bohnenartig oder endlich ellipsoidisch. Die für die erstgenannten Vakuolen beschriebenen Einschlüsse scheinen in den Glykogenvakuolen niemals vorzukommen.

Wir wenden uns nun den **Granulabildungen** des Hefeplasmas zu. Über dieselben herrscht heute auch noch keine eindeutige Auffassung. Jedenfalls müssen wir dieselben als verschiedenartig betrachten, wenn auch ihre Form und ihr Bau uns für die Einordnung und Erkennung der Zusammengehörigkeit nur in den wenigsten Fällen eine Grundlage gibt.

Vor allem sind hier wie bei den Bakterien die „metachromatischen Körperchen" zu nennen, die sich mit Methylenblau gut färben und in größerer und kleinerer Anzahl in der Hefezelle finden. Mit Kohl können wir sagen, daß dieselben als Reservestoffe aufzufassen sind, die in sehr kleinen Vakuolen liegen. Um jedes solches Korn zeigt sich bei genauer Untersuchung ein schmaler hyaliner Hof. Die früher in den größeren Vakuolen genannten Einschlüsse gehören ebenfalls in die Kategorie der metachromatischen Körperchen.

Im Plasma finden wir noch stark lichtbrechende, kleine, farblose Körnchen, die man als Mikrosomen oder paraplasmatische Gebilde bezeichnet hat. Dieselben treten oft massenhaft in der Zelle auf, mitunter aber nur in geringer Anzahl. Auch ihre Größe unterliegt bedeutenden Schwankungen. Kohl hält sie mit Recht auf Grund zahlreicher Reaktionen und färberischen Erscheinungen für „Eiweißkristalle" (Eiweißkristalloide), „die sich den Cyanophycinkörnern der Cyanophyceen direkt an die Seite stellen".

Die Hefe bildet beim Zutritt des Sauerstoffes der Luft und nicht allzu niedriger Züchtungstemperatur reichlich **Fett**. Dasselbe findet sich im Plasma in Form größerer und kleinerer Kügelchen. Diese Tropfen vereinigen sich häufig zu sehr verschiedenförmigen Gestalten, wie Hantelformen, ausgezogenen Tropfen und biskuitförmigen Massen. In der toten Hefezelle fließen die gesamten Fetttröpfchen zu einem einzigen großen Tropfen zusammen. Nach Will hat man nun zweierlei Arten fettiger Gebilde in der Hefezelle zu unterscheiden, „Ölkörperchen" und „Öltröpfchen". Erstere bestehen aus einer eiweißartigen Grundsubstanz, die von einem fettartigen Stoff durchsetzt ist, während die Öltröpfchen dieser eiweißartigen Grundlage entbehren.

Bei lebhafter Gärung und Vermehrung speichert die Hefe mehr oder weniger große Mengen von **Glykogen**, das sich zum größten Teil in besonderen Vakuolen, den früher genannten Glykogenvakuolen, ansammelt. Das Glykogen ist, im mit Jod nicht behandelten Zustande, eine bei starker Vergrößerung außerordentlich fein gekörnte Masse.

die mitunter eine schollenförmige Gestalt aufweist oder zur Gänze die Vakuole füllt.

In dem in Figur 100 wiedergegebenen Schema des feineren Baues der Hefezelle, das natürlich ganz allgemein gehalten ist, sehen wir alle geformten Einschlüsse eingezeichnet.

Ein lange Zeit viel umstrittenes Objekt bildete der **Kern der Hefezelle**. Heute wissen wir, daß die Hefezelle einen solchen besitzt und daß sich an ihm während der Sprossung und Sporenbildung, kurz bei der Vermehrung, eine Reihe von Vorgängen abspielt, die wir in komplizierterer Art auch an den Kernen der Zellen der übrigen höheren pflanzlichen und tierischen Organismen zu sehen gewohnt sind. Über die Kernteilungen

Schema der vegetativen Hefezelle.

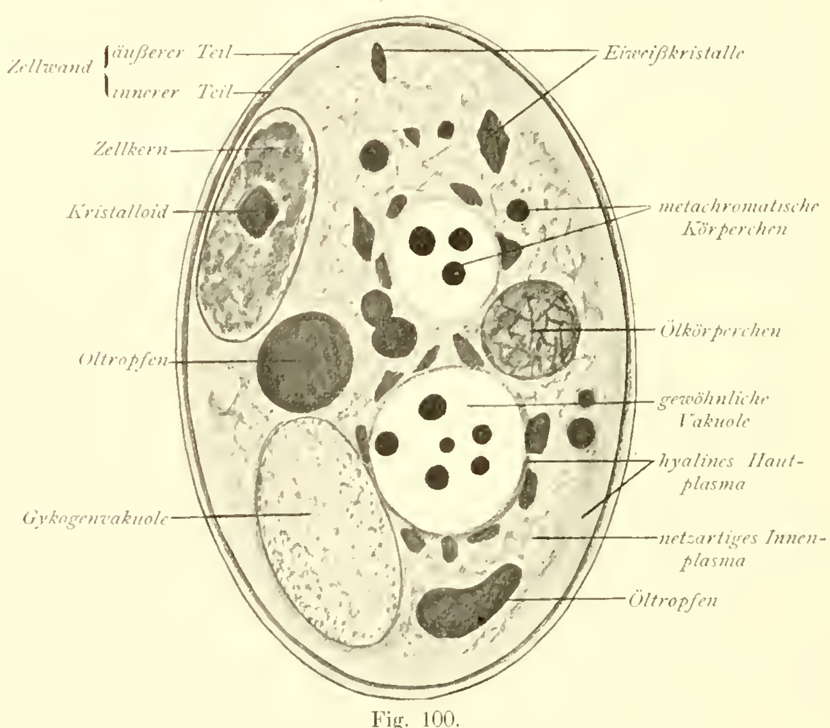


Fig. 100.

selbst gehen die Untersuchungsergebnisse allerdings noch immer stark auseinander, indem sowohl an den einzelnen Arten als auch an den Zellen ein und derselben Art verschiedene Teilungsvorgänge beobachtet wurden.

Wir wollen uns zunächst mit dem **Kern der vegetativen Hefezelle** näher befassen.

Der ruhende, nicht unmittelbar in Teilung befindliche Kern hat eine scheibenförmige Gestalt und mißt im größten Durchmesser etwa 2,5 μ. Es kommt aber auch sehr häufig zu Deformationen, die durch nebenliegende Vakuolen oder andere, größere Zelleinschlüsse bedingt sind. In diesem Falle nimmt er die Form einer mehr oder weniger gekrümmten Konkav-Konvexlinse an. Die Lage des Kernes in der Zelle

ist variabel und wird sozusagen ständig geändert. Wir sehen ihn deshalb oft wandständig oder auch mehr dem Zentrum genähert. Der Kern wird aber nur in den wenigsten Fällen passiv durch andere Zelleinschlüsse verlagert, sondern vermag aktiv im Protoplasma durch eine Art amöboider Bewegung seine Lage und Form zu verändern. In Figur 101 sind die meist vorherrschenden Formen des nicht in Teilung befindlichen Kernes wiedergegeben. Wir sehen hier auch die geformten Kernbestandteile. Eine Kernmembran, deren Vorhandensein zwar vielfach angezweifelt wurde, umgibt den ganzen Kern (Figur 101 *m*). Derselbe setzt sich aus einem Kernsaft (Figur 101 *S*) und einem Netzwerk, dem Kerngerüst (Figur 101 *N*) zusammen. Im Kerngerüst liegt dann ein Kristalloid (Figur 101 *K*), das sich kaum von den früher genannten Eiweißkristalloiden des Protoplasmas unterscheidet, und von Kohl zuerst im Hefekern als ständiger Einschluß erkannt wurde. Auch die von verschiedenen Autoren berichteten Beobachtungen von Nukleolen dürften nach den Untersuchungen von Kohl dahin auszulegen sein, daß eben die Kernkristalloide für Nukleolen gehalten worden waren. Hervorzuheben ist, daß im Kern immer nur ein einziges Kristalloid nachzuweisen ist. Bei vorsichtiger Färbung mit schwächer färbenden Anilinfarben ohne vorherige Härtung der Zelle gelingt es übrigens leicht, dasselbe tadellos zur Ansicht zu bringen.

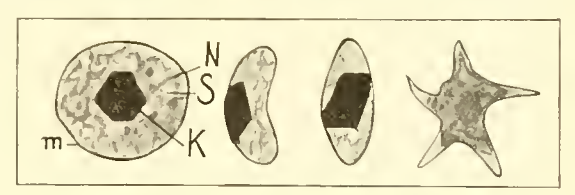
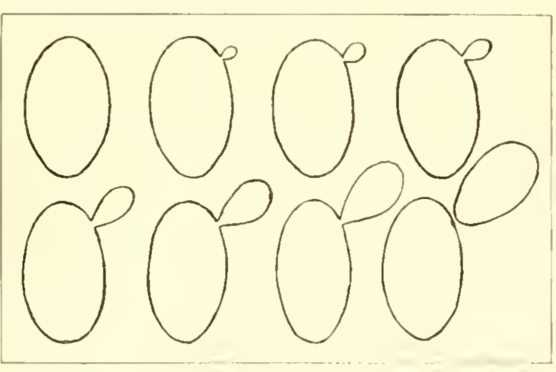


Fig. 101.

Bei der Sprossung spielen sich nun am Kern eine Reihe von Teilungserscheinungen ab, die im allgemeinen zu einer Zweiteilung des Kernes führen. Die vegetative Vermehrung der Hefezellen erfolgt, mit Ausnahme derjenigen der Schizosaccharomyceten, durch die Bildung von Sprossen oder Knospen. An einer Stelle der Zellwand tritt eine kleine Ausstülpung hervor, die sich immer mehr vergrößert und dann, wenn sie fast die Größe der Mutterzelle erreicht hat, durch eine Wand abgeschnürt wird. In der Figur 102 ist die Sprossung einer Zelle schematisch wiedergegeben, wobei nur die Zellumrisse eingezeichnet sind, ohne auf die Inhaltsstoffe eine Rücksicht zu nehmen. Wir sehen hier einzelne Stufen aus der Entwicklung der Sproßzelle, bis sie durch die Einfügung einer Wand von der Mutterzelle getrennt wurde. Häufig bleiben die Sproßzellen noch lange mit der ursprünglichen Zelle in Verbindung und treiben noch vor Erreichung der vollen Größe neue Sprossen, mit denen sie wieder in Verbindung verbleiben können. Dadurch entstehen die Sproßverbände, die wir schon früher kennen lernten.


Fig. 102.

Bei der Sprossung teilt sich nun der Kern in zwei Teile, von denen der eine in der Mutterzelle verbleibt und der andere in den Sproß einwandert. Über die Teilungsvorgänge am Kern zur Zeit der Sprossung liegen nun mehrere abweichende Beobachtungen vor, aus denen hervorgeht, daß dieselben auch bei einer Art von Hefezellen verschieden verlaufen können, ohne daß wir die Ursache dafür bereits erkannt hätten. Jedenfalls kann die Teilung auf mitotischem und amitotischem Wege erfolgen. Im ersteren Falle kommt es zur Ausbildung aller jener Einrichtungen am Kern, durch die eine vollständig gleiche Aufteilung der chromatischen Substanz auf die Tochterkerne herbeigeführt wird. Nach den an Saccharomyces cerevisiae gemachten Beobachtungen verläuft der Kernteilungsvorgang auf mitotischem Wege folgendermaßen:

Zuerst findet eine Auflockerung des ruhenden Kernes unter Zunahme an chromatischer Substanz statt, wobei die Kernmembran undeutlich wird und verschwindet. Dann erfolgt die Ausbildung der Chromosomen, deren Zahl allerdings nicht mit voller Sicherheit bisher bestimmt werden konnte. Wahrscheinlich dürften vier Chromosomen entstehen. Diese ordnen sich dann unter Ausbildung einer mehr oder minder deutlich nachweisbaren Teilungsspindel zum Monaster. Ein Zentrosoma konnte an den Polen der achromatischen Spindel nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden, da alle derartigen Gebilde, die man bisher damit identifizieren zu können glaubte, nach den Untersuchungen Kohl's Kernkristalloide sein dürften. Im Monasterstadium findet dann die Teilung der Chromosomen in zwei Tochterchromosomen statt, die sich längs der Spindel zum Dyaster ordnen, polwärts wandern und am Spindelpole angelangt, sich zu den ruhenden Kernen umlagern.

Bei dieser polaren Umlagerung entsteht zuerst aus den Chromosomen ein lockerer Knäuel, in dem sich die chromatische Substanz später verdichtet und so zur Bildung des dichten Knäuels führt, aus dem unmittelbar nach Abnahme des Chromatins der ruhende Kern hervorgeht. Dann haben wir zwei Tochterkerne, von denen einer in der Mutterzelle verbleibt, während der zweite für die Sprosse bestimmt ist. Die Überwanderung des einen Tochterkernes in die Knospe erfolgt meist unmittelbar vor Ausbildung des Knäuelstadiums, so daß man in derselben noch die Reste der achromatischen Spindel häufig beobachten kann.

Nach zahlreichen Beobachtungen können wir sagen, daß im allgemeinen die Knospung in einem späteren Zeitpunkt unabhängig von der Lage des Kernes einsetzt, als die Kernteilung. In den meisten Fällen beginnt erstere zur Zeit des Monasterstadiums, kann aber auch gleichzeitig mit der Kernteilung erfolgen. In den seltensten Fällen tritt die Knospung erst nach vollendetem Dyaster auf.

In der Figur 103 ist die Karyokinese des Kernes von Saccharomyces cerevisiae etwas schematisiert nach den Untersuchungen von Fuhrmann dargestellt. *1* zeigt uns die Hefe mit dem ruhenden Kern samt der Kernmembran. In *2* ist die Auflockerung des Kernes und das Verschwinden der Kernmembran zur Anschauung gebracht, während *3* bereits die achromatische Spindel und die zum Monaster gelagerten Chromosomen erkennen läßt. In *4* sehen wir das gleiche Stadium der Teilung

wie in *3*, aber von der Seitenansicht, in der der Spindelapparat mit den Chromosomenmassen deutlich zu beobachten ist. In *6* gewahren wir die bereits geteilten Chromosomen, wie sie den Dyaster zusammensetzen, um nunmehr den Polen der Spindel längs der achromatischen Fäden sich zu nähern. In *7* haben die Tochterchromosomen den Spindelpol erreicht. *8* zeigt uns die Hefe mit der jungen Knospe, in die nunmehr der eine Tochterkern einwandert, was in *9* bereits geschehen ist. *10* entspricht endlich der Hefe mit der Knospe, die je einen Tochterkern im Ruhestadium enthalten.

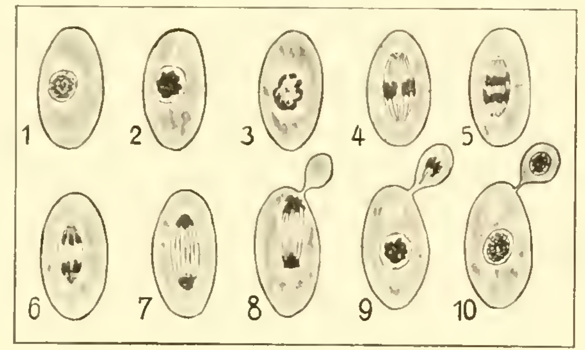


Fig. 103.

Wie schon angedeutet, erfolgt die Kernteilung bei der Sprossung auch durch einfache Fragmentation, wie zahlreiche Untersuchungen ergeben haben, darunter auch diejenigen Kohl's. Auch bei der Fragmentation des Kernes schwillt zuerst die Chromatinmasse unter Substanzzunahme an und die Kernmembran verschwindet. Wir sehen diese Stadien in *A* und *B* der Figur 104 abgebildet. *A* bezieht sich auf den ruhenden Kern, während *B* bereits den chromatinreicheren, länglich ausgezogenen und in der Mitte leicht biskuitartig eingeschnürten Kern zeigt, der bereits eine Hantelform aufweist. Die beiden aufgetriebenen Kernteile gehen dann immer weiter voneinander weg und der Verbindungsfaden wird immer dünner, wie es *C* der Figur 104 erkennen läßt. In diesem Stadium der Teilung hat die Zelle meist schon eine ziemlich große Knospe, in die nun der ihr zunächst befindliche Kernteil einwandert, wie es *D* der Figur 104 zeigt. Es erfolgt diese Wanderung aktiv, indem der für die Sprosse bestimmte Kernteil einen Faden entsendet, der in dieselbe hinein-

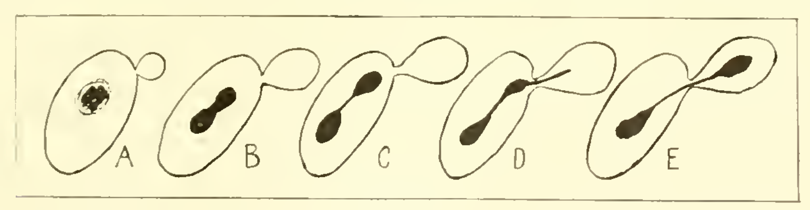


Fig. 104.

zieht. Der übrige Kern wandert so durch die Verbindungsstelle von Mutterzelle und Knospe hindurch, bis sich die gesamte Kernhälfte darin befindet. Die beiden Tochterkerne bleiben noch längere Zeit hindurch mit einem feinen Faden verbunden, wie es *E* der Figur 104 zeigt. Mit der Abschnürung der Knospe reißt das Verbindungsstück durch und die beiden Reste des Verbindungsfadens ziehen sich zu ihren Kernen zurück. Dann gehen beide Tochterkerne ins Ruhestadium über, um alsbald eine neue Teilung zu beginnen.

Ebenfalls auf amitotischem Wege, also durch Fragmentation, erfolgt die **Kernteilung bei der Sporenbildung.** Dabei ergeben sich annähernd gleiche Kernteile für die meist in Vielzahl zur Ausbildung gelangenden Sporen. Bei der Kernteilung während der Sporulation sind die entstehenden „Sporenhanteln", wie Kohl die in Teilung befindlichen, biskuitförmigen Kerne nennt, kleiner als bei der Fragmentation des Kernes zur Versorgung von Sprossen. Wenn eine ungerade Vielzahl von Sporen angelegt wird, so sind die beiden Hantelköpfe ungleich. Werden beispielsweise drei Sporen ausgebildet, so haben wir bei der ersten Kernteilung einen größeren und einen kleineren Hantelkopf, wodurch zwei ungleichgroße Tochterkerne hervorgehen, von denen sich der größere abermals amitotisch teilt, so daß also drei annähernd gleichgroße Tochterkerne für die drei Sporen entstehen. Gewöhnlich wird der gesamte Kern restlos für die Sporen aufgeteilt. Vielfach beobachtet man aber auch Fälle, bei denen ein Tochterkern oder selbst mehrere in der Sporenmutterzelle zurückbleiben. Letzteres scheint allerdings selten der Fall zu sein. Eine gute Vorstellung von der Aufteilung des Kernes bei der Sporenbildung geben uns die Schemata von Kohl, die hier in Fig. 105 nach dessen Zeichnungen wiedergegeben sind.

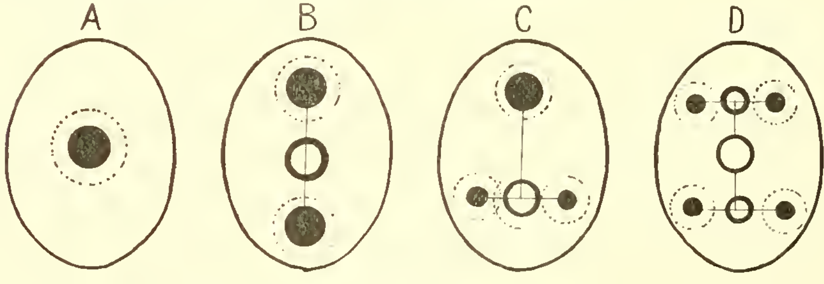


Fig. 105.

A zeigt uns die Sporenmutterzelle, deren Kern einfach zum Sporenkern wurde. Dieser Fall tritt immer dann ein, wenn nur eine Spore in dem Askus zur Ausbildung gelangt. Die um den Kern gezogene, punktierte Linie entspricht der Sporenmembran. Wenn zwei Sporen entstehen, dann teilt sich der Kern in zwei gleichgroße Teilstücke, die je eine Spore versorgen. *B* zeigt uns diese Verhältnisse im Schema. Der ursprüngliche, in der Mitte der Zelle liegend angenommene Kern, in der Zeichnung als Kreisring dargestellt, liefert durch Fragmentation die beiden Tochterkerne für die Sporen. Werden drei Sporen angelegt, dann entsprechen die dabei obwaltenden Teilungsverhältnisse *C* der Fig. 105. Zuerst erfolgt eine Zweiteilung des Mutterkernes. Der eine Tochterkern, oben in der Figur liegend, wird zum Kern der einen Spore, während der zweite Tochterkern sich abermals durch Zerschnürung in zwei gleiche Kerne teilt, die die zwei anderen Sporen versorgen. Entstehen im Askus vier Sporen, so besteht das Schema *D* der Fig. 105 zu Recht. Der Mutterkern teilt sich in zwei Tochterkerne, die durch eine weitere Teilung insgesamt vier Kernteile für die vier Sporen liefern. Die hier aufgestellten Schemata gelten aber nur für diejenigen Fälle, in denen der Mutterkern für die Sporen restlos aufgebraucht wird.

Etwas anders erfolgt die Kernversorgung der Sporen dann, wenn in der Mutterzelle ein Kern zurückbleibt, was sicher, wie schon gesagt, oftmals vorkommt. Nach Kohl lassen sich für die verschiedene Anzahl von Sporen in diesem Falle die in Fig. 106 wiedergegebenen Schemata aufstellen. Hier ist wieder der Sporenkern voll ausgezogen und mit einem punktierten Kreis umzogen, während der in der Mutterzelle restierende Kern nur voll ausgemalt ist und die nicht bleibenden Teilungsprodukte des Kernes durch einen Kreis angedeutet sind. *A* zeigt uns die Verhältnisse bei der Ausbildung einer einzigen Spore. Nach einer einfachen Fragmentation wird der eine gleichgroße Tochterkern zum Sporenkern, während der zweite in der Mutterzelle verbleibt. *B* gibt uns eine Vorstellung von jenen Fällen, in denen zwei Sporen zur Ausbildung gelangen. Der eine bei der Fragmentation des Mutterkernes entstehende Tochterkern teilt sich zu zwei Enkelkernen, die die Sporen versorgen, während der andere Tochterkern in dem Askus verbleibt. Werden drei Sporen gebildet, so findet dabei die Kernteilung nach dem Schema *C* der Fig. 106 statt. Wieder teilt sich nur ein Tochterkern zu den Sporenkernen weiter. Derselbe liefert zwei Enkelkerne, von denen der eine unmittelbar zum Sporenkern wird, während sich der zweite nochmals

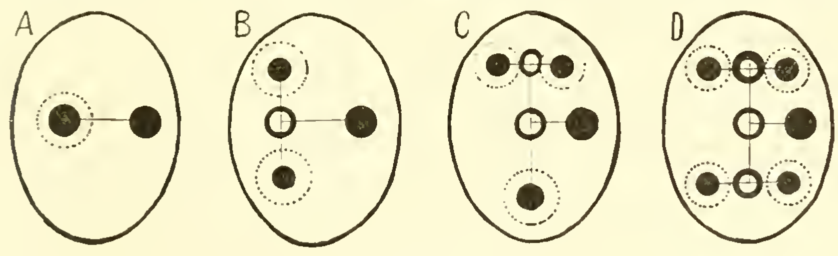


Fig. 106.

amitotisch in zwei Teile teilt, die dann die Kerne der zwei weiteren Sporen sind. Entstehen vier Sporen, dann liefert die Teilung des Mutterkernes zwei Tochterkerne, von denen nur der eine sich durch weitere Fragmentationen zu den vier Sporenkernen aufteilt, während der andere wieder in der Sporenmutterzelle zurückbleibt, wie es aus *D* der Fig. 106 ersichtlich ist.

Im allgemeinen folgen wohl alle Arten der Gattung Saccharomyces den geschilderten Vorgängen der Kernteilung bei der Sporenbildung. Eine Ausnahme machen nach den bisherigen Erkenntnissen nur die Vertreter der Gattung Zygosaccharomyces und einige der Gattung Schizosaccharomyces.

Hier findet vor der Teilung des Mutterkernes zu den Sporenkernen eine Verschmelzung der Kerne zweier Zellen statt. Wir haben es dabei mit einem Kopulationsvorgang zu tun, also einem Sexualakt. Während der Askusbildung treiben zwei nebeneinanderliegende Zellen je einen kleinen Fortsatz gegeneinander. Nach der Berührung derselben findet eine Resorption der Zellwände an der Berührungsstelle statt und die Kerne der fusionierenden Zellen wandern in den Verbindungskanal, wo eine Verschmelzung derselben erfolgt. Der aus beiden hervorgegangene neue Kern teilt sich dann erst zu den Sporenkernen. Diese Teilungen sind einfache Fragmentationen unter Ausbildung der Kernhanteln, wie

wir es schon früher kennen lernten. Als ein Beispiel sei hier der Vorgang der Fusion der Kerne von Zygosaccharomyces Barkeri im Bilde nach den Untersuchungen Barkers wiedergegeben[1]). Wir sehen in Fig. 107 zuerst die beiden Zellen, welche Fortsätze gegeneinander treiben, die sich später berühren. In der Folge erscheinen nach Resorption der

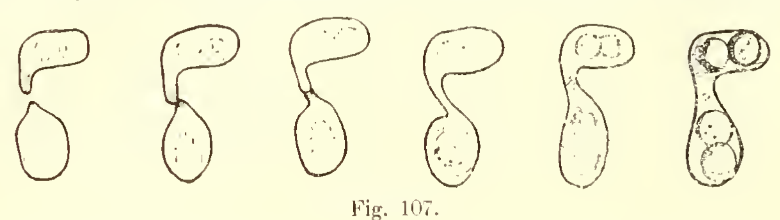


Fig. 107.

Zellwände an der Berührungsstelle beide verschmelzenden Zellen durch einen Kanal verbunden. Die Kerne sind nicht eingezeichnet, sondern nur die jungen Sporenanlagen punktiert, aus denen die vier fertigen Sporen hervorgegangen sind, welche wir in der letzten Abbildung der beiden verschmolzenen Zellen gewahren.

1) Die Abbildung 107 stammt aus Lafar's Handb. der techn. Mykol., Bd. 4, S. 34.

Literatur zur Vorlesung XXV.

Kohl, F. G., Die Hefepilze, ihre Organisation, Physiologie, Biologie und Systematik sowie ihre Bedeutung als Gärungsorganismen. Leipzig 1908.

Klöcker, A., Allgemeine Morphologie und Entwicklungsgeschichte. Lafar's Handb. der techn. Mykologie, Bd. 4, S. 1.

Fuhrmann, F., Der feinere Bau der Saccharomycetenzelle. Zentralbl. f. Bakteriol., II. Abt., Bd. 16, S. 629, 1906.

Will, H., Anatomie der Hefezelle. Lafar's Handb. der techn. Mykol., Bd. 4, S. 39.

Pavillard, J., Etat actuel de la Protistologie végétale. Progressus rei botanicae, Bd. 3, S. 474, 1910.

Fuhrmann, F., Die Kernteilung von Saccharomyces ellipsoideus I Hansen bei der Sproßbildung. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 15, S. 769, 1906.

SECHSUNDZWANZIGSTE VORLESUNG.

Sporulation und Sporenkeimung. Chemie der Hefezelle.

Wir haben die Vorgänge am Kern bei der Sporulation der Hefe bereits erörtert und wenden uns nunmehr jenen äußeren Einflüssen zu, die auf die Sporulation einwirken. Die Sporenbildung bei der Hefe ist wie bei den Bakterien als eine freie Zellbildung aufzufassen. Die Sporen sind Endosporen und entstehen in der unmittelbar sich zum Askus oder zu der Sporenmutterzelle umwandelnden vegetativen Hefezelle. In dem Protoplasma derselben werden sie ausgebildet, wobei ein Teil des mütterlichen Plasma immer als sogenanntes Epiplasma restiert. Meist werden 1—4 Sporen, in vielen Fällen auch bis zu 10 erzeugt.

Die Sporenbildung setzt nun bei der Hefe dann ein, wenn in voller Entwicklung stehende Zellen durch äußere Bedingungen an der Sprossung verhindert werden. Wir haben also zwischen der Sprossung und Sporulation uns eine Art Kampf vorzustellen. Solange es irgend möglich ist, bleibt die Hefe bei der Vermehrung durch Sprossung. Auch ist die Neigung der einzelnen Hefearten zur Sporulation eine verschiedene. Ganz allgemein können wir sagen, daß zur Sporenbildung außer dem guten Ernährungszustand noch reichlich Sauerstoff, Feuchtigkeit und relativ hohe Temperaturen unbedingt notwendig sind.

Die zahlreichen experimentellen Untersuchungen Emil Christian Hansen's über die Bedingungen der Sporenbildung bei der Hefe haben zu Ergebnissen geführt, die wir in folgenden Sätzen kurz wiedergeben können.

1. Nur junge, kräftige, gut ernährte Zellen bilden in typischer Weise ihre Sporen aus.

2. Die Sporenbildung geht nur unter Luftzutritt vonstatten, ist also ein streng aerober Prozeß, für dessen Zustandekommen eine genügende Sauerstoffmenge unerläßlich ist.

3. Die Unterlage, auf die die Zellen sich bei der Sporenbildung befinden, muß reichliche Mengen von Feuchtigkeit aufweisen.

4. Das Optimum der Temperatur für die Sporulation liegt bei den meisten Hefearten um 25° C.

5. Die Zeitdauer der Sporenbildung ist unmittelbar von der Temperatur in dem Sinne abhängig, daß dieselbe für die betreffende Art am kürzesten ist, je näher die herrschende Temperatur dem Optimum derselben für die Sporulation liegt.

6. Das Temperaturmaximum der Sporenbildung liegt niedriger als dasjenige der Sprossung, während das Minimum für die Sporulation höher ist, als für die Sprossung.

Endlich ist gewiß ein die Sporulation wesentlich beeinflussender Faktor der Gehalt an Nährstoffen und die Art derselben im Nährsubstrat. Je kleiner der Vorrat von Nährstoffen in der Nährflüssigkeit im allgemeinen wird, desto sicherer und rascher setzt die Sporenbildung ein. Besonders günstig scheinen erfahrungsmäßig Übergänge von üppigster Ernährung zu mangelhafter zu wirken, worauf man bei den Sporulationsversuchen besonders zu achten hat. Über die Einwirkung der Art der Nährstoffe auf die Sporenbildung wissen wir noch nicht viel. Nach den vorliegenden wenigen in dieser Richtung angestellten Versuchen scheint besonders gewissen Zuckern eine günstige Beeinflussung der Sporenerzeugung zuzukommen, während andere direkt jede Sporulation unterdrücken. Am schnellsten setzt letztere bei der Anwesenheit von Laktose und Rhamnose als Kohlenstoffquelle in der Nährlösung ein; Saccharose und auch Maltose wirkt hemmend, so daß jede Sporenproduktion bei ihrer Anwesenheit ausbleibt.



Fig. 108.

Entsprechend den eben mitgeteilten Erkenntnissen über die Bedingungen der Sporenbildung hat man eine besondere Methode der Untersuchung der Sporulation ausgearbeitet, die allen obigen Anforderungen gerecht wird und Ergebnisse in bezug auf die Kardinalpunkte der Sporenbildung bzw. der Zeitdauer und Temperatur liefert, die für die Unterscheidung der Arten von größter Wichtigkeit sind.



Fig. 109.

Wir verwenden dabei Zellen, die sich in höchster Sproß- und Gärtätigkeit befinden. Deshalb überimpfen wir dieselben vor der Anlage der Sporenkultur in gut nährende und leicht vergärbare Substrate, wie frische, sterile Bierwürze, in der wir sie einige Tage bei Zimmertemperatur züchten. Von der in dieser Zeit gebildeten Bodensatzhefe überimpft man dann in eine neue Portion steriler Bierwürze und züchtet durch 24 Stunden bei 24° C. Die nunmehr entstandene Satzhefe wird nach vorsichtiger Entfernung der überstehenden Nährflüssigkeit auf eine für die Sporulation geeignete Unterlage gebracht. Als solche erweist sich am zweckmäßigsten der **Gipsblock** in der Form, wie es Fig. 108 zeigt, wenn im großen gearbeitet werden soll, oder in ein Hansenkölbchen eingegossen, wie aus Fig. 109 ersichtlich ist. Auf die Oberfläche der sterilen, trockenen Gipsblöcke wird von der Satzhefe nach der oben geschilderten Vorbehandlung eine Portion ausgestrichen und in das Glasgefäß eine etwa bis zur Hälfte der Blockhöhe reichende Menge sterilen Wassers eingegossen.

damit der Block sich mit Wasser von unten her vollsaugen kann und ständig feucht gehalten ist. Der nur lose schließende Deckel oder beim Hansenkölbchen der lockere Wattepfropf gestattet einen genügenden Luftzutritt. Unter diesen Verhältnissen tritt die Sporenbildung unter Einhaltung der geeigneten Temperaturen alsbald ein und die erhaltenen Kardinalpunkte in bezug auf die Temperatur sind für die einzelnen Arten als sehr konstant anzusehen.

Folgendes Beispiel für die Kardinalpunkte der Temperaturen für die Sporenbildung von Saccharomyces cerevisiae nach Hansen sei hier aufgeführt:

Temperatur ° C	Beginn der Sporulation nach Stunden	
37,5	Überhaupt keine Sporenbildung	
36—37	**29 Stunden**	**Maximum**
35	25 „	
33,5	23 „	
30	**20** „	**Optimum**
25	23 „	
23	27 „	
17,5	50 „	
16,5	65 „	
11—12	10 Tagen	**Minimum**
9	keine Sporulation	

Demnach ist das Temperaturoptimum für die Sporenbildung von Saccharomyces cerevisiae bei 30°, das Maximum zwischen 36 und 37° und endlich das Minimum zwischen 11 und 12°.

Für einige Arten liegen genaue Angaben über die Kardinalpunkte der Temperatur bei der Sporulation vor, die hier in einer kleinen Zusammenstellung gebracht seien.

Art	Temperatur		
	Minimum	Optimum	Maximum
Saccharomyces Pastorianus Hansen . . .	0,5° C	27,5° C	31,5° C
Saccharomyces intermedius Hansen . . .	0,5° C	23° C	29° C
Saccharomyces validus Hansen	4° C	25° C	29° C
Saccharomyces ellipsoideus Hansen . . .	4° C	25° C	32,5° C
Saccharomyces turbidans Hansen	4° C	22° C	35° C
Willia anomala Hansen	3,5° C	30° C	34° C
Saccharomycodes Ludwigii Hansen . . .	3° C	30° C	34° C
Saccharomyces cerevisiae Hansen	11,5° C	30° C	36,5° C

Bei zahlreichen Hefearten gelingt es mehr oder weniger leicht, durch fortgesetzte Züchtung über dem Temperaturmaximum und auch durch andere äußere Einflüsse die Fähigkeit der Sporenbildung überhaupt zu unterdrücken. Selbst unter günstigen Bedingungen gezüchtet, findet bei den weiteren Generationen keine Sporenbildung mehr statt. Man spricht in diesem Falle von asporogenen Rassen einer Hefeart. Ob die so herausgebildete Asporogenie als neues erbliches, konstantes Merkmal aufzufassen ist oder nicht, sei einstweilen dahingestellt.

Die **Form der Sporen** ist meist rund oder leicht elliptisch. Bei einigen Arten beobachtet man aber auch anders geformte Sporen, die für dieselben äußerst charakteristisch sind. In der folgenden Fig. 110 sind die wesentlichen Formen sehr stark vergrößert abgebildet. *A* dieser Figur entspricht der Kugelform der Sporen, *B* der schwach elliptischen und *D* der doppelt behäuteten Spore von Saccharomycopsis guttulatus. Die Oberfläche der Sporen von Willia anomala hat eine einseitige Abflachung mit vorspringender Kante, wie es *C* der Fig. 110 links in der Seitenansicht zeigt. Es kommt dadurch die hutförmige Gestalt der Sporen dieser Art zustande. Von unten oder oben gesehen gewahrt man im optischen Schnitt nur einen der äußeren Kontur parallellaufenden inneren Kreis, entsprechend *C* rechts. Die Spore von Willia Saturnus, abgebildet in *E* der Fig. 110, zeigt eine linsenförmige Gestalt, weshalb die Mitte erhaben erscheint, sobald man eine Seitenansicht vor sich hat. Außerdem enthält jede Spore in der Mitte ein stark lichtbrechendes Kügelchen. Wegen der Ähnlichkeit dieser Sporen mit den Saturnabbildungen hat Klöcker die Hefe eben Willia Saturnus benannt. Außer den mitgeteilten Sporenformen beobachtet man auch nieren- oder bohnenförmige Sporen, wie bei Saccharomyces Marxianus. Solange die Sporen in größerer Anzahl dicht gedrängt im Askus liegen, kommt ihre reine Gestalt meist schlechter zum Ausdruck, da die Berührungsstellen mehr oder weniger abgeplattet sind. In der Fig. 111 sehen wir ein Photogramm von sporentragenden Zellen von Saccharomyces ellipsoideus wiedergegeben. Die dunklen Stellen entsprechen den Sporen, während das Epiplasma nur sehr wenig sichtbar ist. An den Sporen, die der Länge nach zu dritt im Sporangium liegen, sieht man die Abplattungen an den Berührungsstellen gut, während in den Sporenmutterzellen, die nur wenige Sporen enthalten oder in denen sie locker liegen, die kugelige Gestalt derselben zur Beobachtung gelangt.

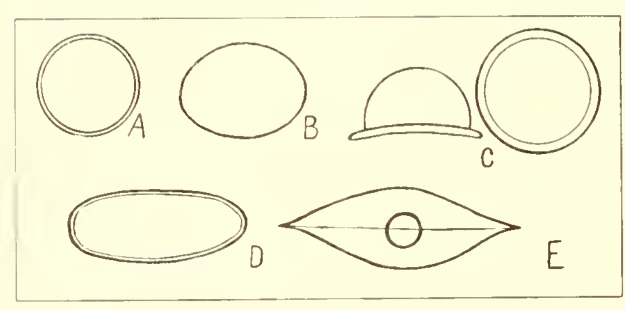
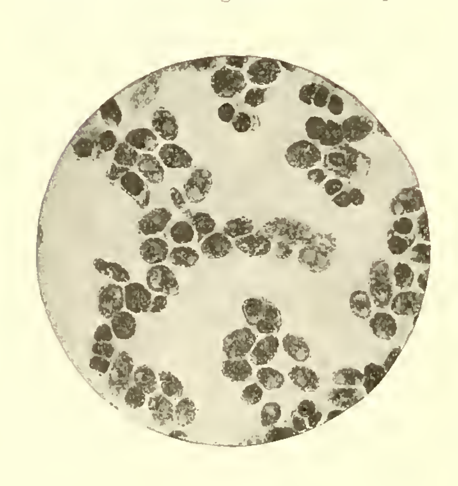


Fig. 110.


Fig. 111.

Die **Größe der Sporen** ist nun bei den einzelnen Arten und den Individuen derselben Art verschieden. Die folgende Zusammenstellung einiger Sporenmasse zeigt die Schwankungen der Sporengrößen sehr deutlich.

Saccharomyces cerevisiae	2,5—6 μ
Saccharomyces validus	2—5 μ
Saccharomyces ellipsoideus	2—4 μ
Saccharomyces Soya Saito	2,7—4,5 μ
Saccharomyces Ludwigii	3—4 μ
Saccharomycopsis capsularis	3,5—8 μ
Willia anomala[1])	2—3 μ

Die Größenunterschiede der Sporen zweier verschiedener Arten sind meist nicht so groß, wie diejenigen der Sporen einer Art, weshalb die Sporengröße für die Unterscheidung der Arten nur in den seltensten Fällen verwertet werden kann.

Der **feinere Bau der Hefesporen** ist in vielen Beziehungen jenem der vegetativen Zelle ähnlich. Die Spore ist von einer Membran umgeben, die den Sporeninhalt lückenlos einschließt. Nur in wenigen Fällen, wie bei der Gattung Saccharomycopsis ist der Sporeninhalt von zwei Membranen umgeben, von denen die äußere auch als Exosporium, die innere als Endosporium bezeichnet wird. Ersteres nimmt bei der Behandlung mit Schwefelsäure und anderen Mineralsäuren eine rosarote Farbe an.

Der Sporeninhalt besteht aus einem Protoplasma, einem Kern und einigen anderen geformten Einschlüssen. Das Plasma hat eine etwas dichtere Beschaffenheit und ist von kleinen Vakuolen durchsetzt. Es sieht besonders in gefärbtem Zustande wie gekammert aus. Der meist sehr kleine, exzentrisch in der Spore liegende Kern sendet eine Art von Plasmastrahlen aus, die eben das gekammerte Aussehen des Sporenplasmas bedingen, da sie radiär im Plasma verlaufen. Im Plasma finden wir gewöhnlich Granula, die sich mit Überosmiumsäure schwärzen und wahrscheinlich fettartiger Natur sind. Mitunter gelingt es auch, in kleinen Plasmabezirken der Spore Glykogen nachzuweisen.

Wenn die Hefesporen auf einen geeigneten Nährboden kommen, so keimen sie. Die **Keimung** der Sporen erfolgt im allgemeinen nach zwei Typen. Entweder sprossen die vegetativen Hefezellen aus der Spore hervor, oder es kommt zuerst zur Ausbildung eines Keimschlauches, des Promyzels, von dem die Hefezellen durch Querwandbildungen abgespalten werden.

Die Sporenkeimung setzt nun damit ein, daß die in der Sporenmutterzelle ruhenden Sporen durch Wasseraufnahme erheblich anschwellen und so im Askus zu einer Drucksteigerung führen, die den Anlaß zu sehr starken Deformationen der Mutterzelle und der Sporen selbst gibt. Zwischen die Sporen eingepreßt befindet sich das früher genannte Restplasma oder Epiplasma, so daß eine Kammerung der Mutterzelle vorgetäuscht werden kann. Inzwischen ist die Wand des Askus weicher geworden und beginnt zu verschleimen und sich zu lösen. Häufig kommt es auch zu Einrissen. Jedenfalls spielt aber bei der Befreiung der Sporen aus der Mutterzelle die Lösung der Mutterzellwand die wichtigste Rolle. Die nunmehr freien, in Keimung befindlichen Sporen treiben Sprosse, wobei die Vorgänge am Kern und Plasma jenen bei der gewöhnlichen Sproßvermehrung gleich verlaufen. Wenn zwei Sporenhäute vorhanden sind, wird das Exosporium an einer bestimmten Stelle, die für

1) Ohne Leiste gemessen.

die Art konstant ist, zuerst eingerissen und dann findet erst die gewöhnliche Keimung durch Sprossung statt. In seltenen Fällen beobachtete man auch, daß die Sproßbildung der Spore noch innerhalb der Mutterzelle einsetzt.

In folgender Fig. 112 sind einige Stadien der Sporenkeimung, die durch Sproßbildung verläuft, schematisch wiedergegeben. *A* zeigt uns einen Askus von Saccharomyces cerevisiae, in dem sich drei reife Sporen in Ruhe befinden. Sobald dieselben zu keimen beginnen, schwellen sie an und erfüllen allmählich den ganzen Inhalt des Sporangiums, das selbst sehr gedehnt und deformiert wird, wie es *B* und *C* der Figur zeigen. In *D* sind die Sporen bereits aus der Sporenmutterzelle befreit und die Membran der letzteren ist noch als anliegender Rest zu sehen. An den Sporen sind bereits Sprosse aufgetreten, die sich dann weiter als sprossende Hefezellen vermehren (*E*). *F* bis *I* dieser Figur zeigen uns die Verhältnisse der Sporenkeimung bei doppelter Sporenmembran an Saccharomycopsis capsularis Schiönning. *F* entspricht der reifen, freien Spore. In *G* hat sich das Exosporium gespalten und die quellende, in Keimung befindliche Spore schiebt beide Teile, die noch zusammenhängen, auseinander. *H* und *I* lassen die Sproßbildung an der Spore erkennen, die an den Sproßstellen nur mehr mit dem Endosporium bekleidet ist.

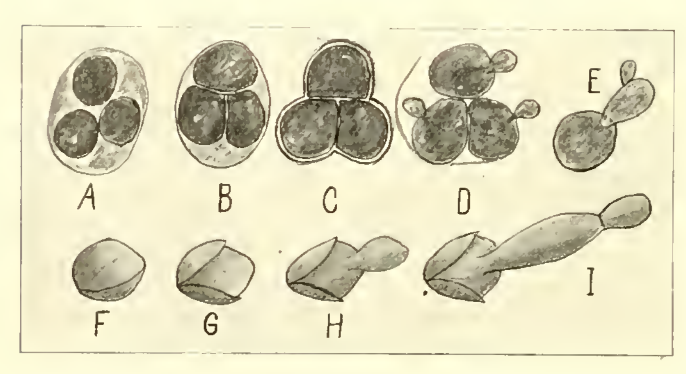


Fig. 112.

Mitunter beobachtet man auch eine Verwachsung zweier, dicht aneinander gepreßter Sporen, wobei die Sporenwände beider Zellen an der Berührungsstelle zur Auflösung gelangen.

Nach diesem Typus der Keimung durch Sprossung keimen wohl alle bei der Weinbereitung, Brauerei und Brennerei in Verwendung stehenden Hefen.

Bei der zweiten Art von Keimung der Hefesporen wird zuerst von der Spore ein Promyzel oder Keimschlauch gebildet. In diesem Falle tritt besonders häufig eine Verschmelzung von zwei oder drei Keimschlauchanlagen bei der Keimung auf, in welchem Falle das fertige Promyzel erst aus diesen verschmolzenen Anlagen hervorgeht. Für Saccharomycodes Ludwigii und einige andere Hefen gilt dies geradezu als Norm. In der Fig. 113 ist diese Art von Keimung unter Verschmelzung zweier Keimschlauchanlagen für Saccharomycodes Ludwigii nach Hansen wiedergegeben. Wir sehen hier in *a* zwei reife, keimende Sporen nebeneinanderliegen. Beide treiben kurze, kleine Keimschläuche, die alsbald verschmelzen, wie es *b* dieser Figur zeigt. Die gemeinsamen und jetzt verschmolzenen Keimschlauchanlagen wachsen dann zum Promyzel aus, wie es aus *c—c* der Fig. 113 zu entnehmen ist. Schließlich

fügt sich eine Querwand ein, was in *f* zur Darstellung gebracht ist. Durch dieselbe wird die erste Sproßzelle abgespalten, was in *g* ersichtlich ist. Die junge Sproßzelle nimmt dann alsbald die für Saccharomycodes Ludwigii typische Zitronenform an. In der Folge spaltet das Promyzel noch einige Sproßzellen ab, entsprechend *h* der Fig. 113. Wenn das Promyzel auch nur von einer Spore als Zwischenglied zwischen ihr und der Sproßzelle zur Ausbildung gebracht wird, so findet die Querwandbildung und Abspaltung der Sproßzellen ebenfalls in der angegebenen Weise statt.

Übrigens können wir auch bei der ersten Art der Keimung, die ohne Einschaltung eines Promyzels statthat, häufig eine Verschmelzung zweier Sporen vor der Keimung beobachten. Es handelt sich auch hier um eine echte Zellverschmelzung, da dabei aus zwei oder mehreren Sporen eine Zelle entsteht, die Sprossen treibt. Allerdings verschmelzen hier die Sporen selbst, während bei der zweiten Art von Keimung mit Promyzelbildung die jungen Keimschläuche eine Verschmelzung eingehen und eine neue Zelle bilden, aus der durch Spaltung die Sproßzellen hervorgehen.

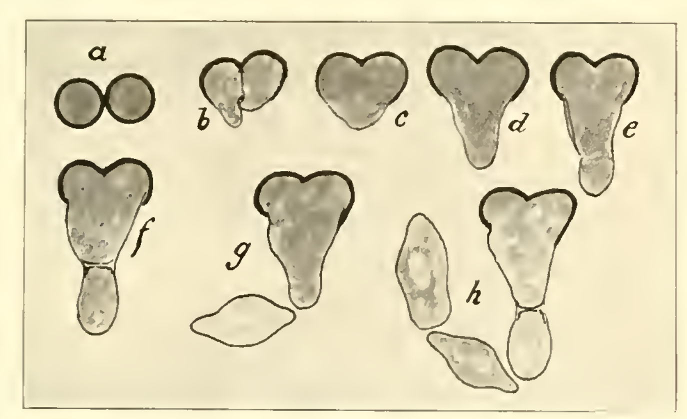


Fig. 113.

Bezüglich der **Chemie der Hefezellen** kann ganz allgemein gesagt werden, daß die Hefen im wesentlichen aus denselben Elementen aufgebaut sind als die Bakterien. In bezug auf die Menge der einzelnen Verbindungen finden wir auch hier große Schwankungen, die in erster Linie vom Zustand der Zellen, dem Alter derselben und dem Nährsubstrat, auf dem sie wachsen, abhängen.

Der **Wassergehalt** der Hefezellen ist im allgemeinen niedriger als derjenige der Bakterien, denn er beträgt im Mittel etwa 70 %. Die Analysen von Nicolle und Alilaire ergaben für den Wassergehalt der Hefe Frohberg 69,2 %.

Der **Aschengehalt** der Hefen ist ebenfalls schwankend und von dem Aschengehalt des Nährsubstrates und anderen Bedingungen stark beeinflußt. Die meisten Bestimmungen des Aschengehaltes beziehen sich auf ein Material, das keineswegs aus Hefezellen allein besteht, da es sich dabei in erster Linie um Betriebshefen und Preßhefen handelt. Der sich nach der Hauptgärung in der untergärigen Brauerei im Jungbier zu Boden setzende Niederschlag, kurz „Satzhefe“ genannt, wird nicht allein von Hefezellen gebildet, sondern schließt noch eine Reihe anderer Stoffe ein, von denen einige sehr aschenreich sind, wie die Eiweißstoffe aus der Würze, welche bei der Gärung ausfallen, und besonders der oxalsaure Kalk.

Vielfach wurden vor der Aschenbestimmung die Hefen noch gründlich gewaschen, was abermals zu Fehlern führen muß, da bei einer derartigen Reinigung gewiß eine nicht unbeträchtliche Menge von Aschebestandteilen aus den Zellen in Lösung geht. Dabei ergeben sich dann zu niedrige Zahlen.

Die folgenden Beispiele von Aschenbestimmungen von **Ober-** und **Unterhefe** werden die großen Schwankungen in der Aschenmenge, die gewiß zum Teil auf die Methodik und das Material zurückgehen, erkennen lassen.

In Prozenten des Trockenrückstandes ausgedrückt beträgt der Aschengehalt von:

Unterhefe: 3,50—5,30—7,61—7,70—8,07—10,10
Oberhefe: 2,50—5,50—7,65—8,90—11,50

Die Zusammensetzung der Asche selbst weist ebenfalls große Schwankungen auf, wie sofort aus der Zusammenstellung von Ad. Mayer hervorgeht, nach der dieselbe in Prozenten der Asche für die verschiedenen Bestandteile folgende Werte aufweist:

Phosphorsäure . .	51,0 —59,0	Proz.
Kali	28,0 —40,0	„
Natron	0,5 — 1,9	„
Magnesia	4,0 — 8,1	„
Kalk	1,0 — 4,5	„
Kieselsäure . . .	0 — 1,6	„
Eisenoxyd . . .	0,1 — 0,34[1])	„
Schwefelsäure . .	0,6 — 6,0	„
Chlor	0,03— 1,0	„

Wir sehen daraus, daß die Hauptmenge der Hefenasche Phosphorsäure ausmacht, dann folgt Kali und in größerem Abstande mit einer immerhin noch beträchtlichen Menge Magnesium, während die anderen Verbindungen nur in geringen Quantitäten vorhanden sind. Dann finden sich noch häufig in Spuren Mangan und Aluminium.

Daß auf die Zusammensetzung der Hefenasche der Nährboden sicher einen nicht unbeträchtlichen Einfluß ausübt, kann daraus geschlossen werden, daß die Analysenergebnisse von Betriebshefen, die auf vegetabilischen Nährsubstraten gezüchtet werden, andere sind als von Hefen, die vornehmlich auf animalischen Nährsubstanzen wachsen. Als Beispiel für letzteren Fall sollen die Angaben über die Zusammensetzung der Asche der Soorhefe hier wiedergegeben werden.

Darnach besteht die Asche, in Prozenten der folgenden Verbindungen berechnet, aus:

Phosphorsäure .	57	Proz.
Kali	9	„
Natron	19	„
Magnesia . . .	7	„
Kalk	14	„
Kieselsäure . .	2	„
Chlor	0,3	„

1) Ist bei Béchamp, dem Verfertiger der Analyse, mit 7,34 angegeben, was aber ein Druckfehler sein dürfte, wie schon richtig Lafar in seiner Zusammenstellung der Hefeaschenanalysen bemerkt. (Vgl. Lafar, Spezielle Physiologie der Ernährung und der Vermehrung und Methodik der Reinzüchtung der Hefen. Handb. der techn. Mykologie, Bd. 4, S. 84.)

Auffallend ist das starke Zurückgehen des Kali gegenüber dem Natron, wenn wir die eben mitgeteilten Zahlen mit den früheren von Betriebshefen vergleichen. Daß die Angaben über den Schwefelgehalt bei allen Aschenanalysen zu niedrig sind oder Schwefel gänzlich vermißt wird, darf nicht wundernehmen, da bekanntlich Schwefelverluste nicht ohne besondere Vorsicht vermieden werden können. Jedenfalls erhält die Hefezelle aber jederzeit Schwefelverbindungen.

Außer den bereits genannten Elementen in den angegebenen Verbindungen enthalten die Hefen noch in großer Menge:

Stickstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff und Wasserstoff,

die in zahlreichen Bindungen am Aufbau des Plasmas, der Zellhaut und der Reservestoffe teilnehmen.

Der Stickstoffgehalt der Hefen ist recht bedeutend, er schwankt übrigens sehr nach dem Zustande der Hefe und wird wahrscheinlich auch von dem Nährboden beeinflußt. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse auch für die drei übrigen Elemente, die oben genannt sind. Man hat sich über die Mengenverhältnisse von Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Wasserstoff durch Elementaranalysen zu orientieren getrachtet, doch sind die erhaltenen Ergebnisse aus den schon früher angeführten Gründen wenig zuverlässig und brauchbar. Trotzdem seien hier einige Angaben über Elementaranalysenbefunde zur allgemeinen Übersicht gebracht, wie sie von Lafar[1]) zusammengestellt sind.

Darnach hat die organische Substanz der Hefe, in Prozenten der Trockensubstanz ausgedrückt, folgende Elementarzusammensetzung:

Autor	Hefenart	C	H	N	O	S	P
Marcet	Bierhefe	30,5	4,5	7,6		45,4	
Dumas	„	50,6	7,3	15,0		27,1	
Mitscherlich . .	„	47,0	6,6	10,0	?	0,6	—
Schloßberger . .	„ obergärig	49,8	6,7	12,4	31,1	—	—
Hessenland . .	„ „	48,6	7,1	7,8	36,6	—	—
„ . .	„ untergärig	49,3	8,2	10,5	32,0	—	—

Die **Zellwand der Hefe** ist in chemischer Hinsicht noch wenig untersucht, obgleich sich zahlreiche Reaktionen angegeben finden. Als sichergestellt kann wohl gelten, daß dieselbe nicht aus Zellulose besteht und keinen chitinartigen Körper enthält. Es dürfte sich dabei der Hauptmenge nach ebenfalls um Hemizellulose handeln. Ein geringer Stickstoffgehalt der Hefemembran ist nicht auszuschließen, da es nicht gelingt, die Membranstoffe stickstoffrei zu gewinnen. Noch unklarer liegen die Verhältnisse bezüglich des Hefengummis, das mit einiger Vorsicht vorläufig den Zellwandstoffen zugezählt werden soll. Es wurden übrigens verschiedene gummiartige Kohlehydrate bei einzelnen Arten von den einzelnen Untersuchern nachgewiesen, so daß möglicherweise auch Verschiedenheiten in der chemischen Zusammensetzung der Zellwand bei einzelnen Saccharomycetenarten vorliegen.

Die Chemie des Zellinneren

der Hefen ergibt die Anwesenheit von reichlichen Mengen verschiedener Eiweißkörper und Abkömmlinge derselben. Schon die älteren Unter-

1) Aus Lafar's Handb. der techn. Mykologie, Bd. 4, S. 92, entnommen.

suchungen führten zu dem Ergebnis, daß das Innere der Hefezelle reich an Eiweißstoffen ist und diese vornehmlich aus Proteinen, Albumin, dann Pepton und Leuzin bestehen, während sich in Spuren auch Xanthin, Guanin und Sarkin finden. Nach Schröder besteht das Hefeeiweiß aus

52,4 % C, 6,9 % H, 15,8 % N, 0,72 % S, 0,06 % P und 0,14 % Asche.

Nach den Untersuchungen von Stutzer kommt der Stickstoff der Hefezelle in bezug auf die Verdaulichkeit der Eiweißstoffe im Magensaft in folgender Weise zur Aufteilung:

Der Gesamtstickstoffgehalt der Hefe beträgt 8,65 %; davon entfallen 5,51 % auf verdauliches Eiweiß, und 2,26 % auf unverdauliches Nuklein, während der Rest von 0,88 % in Amidokörpern und Peptonen sitzt.

Den besten Einblick in die Eiweißchemie der Hefezelle gewähren die mit dem Hefepreßsaft angestellten Analysen. Nach E. Buchner hat der frische Preßsaft eine schwachsaure Reaktion und ein spezifisches Gewicht von 1,027—1,057. Die Menge der Trockensubstanz schwankt zwischen 8,5 und 14,3 %, diejenige des Stickstoffes zwischen 0,8 und 1,4 %. Der Saft erhält 0,228 % Phosphor, 0,065 % Schwefel und 1,3—1,8 % Asche.

Nach Wroblewski's Untersuchungen enthält der Hefepreßsaft Nukleoalbumin, Globulin, Albumin, Proteosen, Peptone, Tyrosin, Leuzin, Glutaminsäure, Xanthinkörper, dann Lezithin und endlich muzinartige Körper als stickstoffhältige Verbindungen.

Das Hefeeiweiß ist sehr reich an Nukleinbasen, wie Xanthin, Guanin, Adenin und Hypoxanthin, die auch quantitativ daraus bestimmt wurden. Außerdem konnte aus dem Hefenuklein auch Cytosin und Uracil, die Muttersubstanz des Thymins, dargestellt werden.

Neben den Eiweißkörpern enthält das Hefeplasma noch eine Reihe stickstoffreier Verbindungen, deren Menge und Art großen Schwankungen unterliegt.

Die Hefe enthält unter gewissen Ernährungsbedingungen und in bestimmten Entwicklungsstadien große Mengen von **Fett**. Nach vorliegenden Untersuchungen soll das Hefefett aus einem Gemisch von ungefähr gleichen Teilen Stearin- und Palmitinsäure bestehen, dem noch ein wenig Buttersäure beigesellt ist. Andere Untersuchungen ergaben die Anwesenheit von drei verschiedenen Fettsäuren, mit 12, 15 und 18 Kohlenstoffatomen. Zuerst sei jene mit 12 Kohlenstoffatomen kurz charakterisiert. Diese ungesättigte Säure von der Formel $C_{12}H_{22}O_2$ addiert Brom und ergibt ein lösliches Bleisalz. Die andere Säure von der Formel $C_{18}H_{34}O_2$, welche möglicherweise mit Ölsäure identisch ist und ebenfalls ein lösliches Bleisalz gibt, siedet bei 12 mm Druck zwischen 210 und 220° C. Die dritte Säure des Hefefettes ist eine gesättigte Fettsäure von der Formel $C_{15}H_{30}O_2$ und konnte mit keiner der bisher bekannt gewordenen Säuren identifiziert werden. Sie ist in Petroläther, Methyläther und Eisessig nur wenig löslich, in Äther und Alkohol aber gut löslich. Mit Baryum und Kalzium gibt sie unlösliche Salze. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 56° C. Neben den Fettsäuren konnte noch ein linksdrehendes, bei 159° schmelzendes Cholesterin von der Formel $C_{26}H_{43}OH + H_2O$ nachgewiesen werden. In der Hefe findet sich dann noch Lezithin in ziemlicher Menge, das sich nur schwierig vom

Eiweiß trennen läßt und wahrscheinlich in der Verbindung Lezithalbumin vorhanden ist.

Weiters enthält die Hefe in gewissen Entwicklungsstadien, besonders am Schlusse der Hauptgärung, in sehr beträchtlicher Menge Glykogen, das wir schon bei den Bakterien kennen lernten.

In der Hefezelle finden wir dann eine Reihe von **Enzymen**, über die wir uns schon bei der Besprechung der Bakterienenzyme genauer orientiert haben. Hier sei auf einige von ihnen näher hingewiesen, die sich nur in einigen Hefearten finden, während die früher eingehend erörterten nur kurz erwähnt werden sollen. Der Übersichtlichkeit wegen wollen wir auch hier an der schon früher benutzten Gruppeneinteilung der Enzyme festhalten.

Alle Sproßpilzzellen sind reich an **Proteasen** oder Amidasen im weiteren Sinne Oppenheimers, worunter alle jene Enzyme zu verstehen sind, welche die CO—NH-Gruppe zu spalten vermögen. Von besonderer Bedeutung ist die schon auf S. 81 kurz erwähnte **Endotryptase** der Hefe, die sich in allen Sproßpilzzellen in Form eines Zymogens findet und während des Lebens der Zellen nicht nach außen tritt. Sie spielt bei der Selbstvergärung alternder Hefe eine hervorragende Rolle. Wir verstehen unter Selbstvergärung eine beträchtliche Abnahme des Eiweiß- und Glykogengehaltes der alternden Hefezelle unter Bildung von Alkohol und Kohlendioxyd, wobei lösliche Sticktoffverbindungen entstehen, die aus der Zelle austreten. Diese Endotryptase kann aus der lebenden Hefe nach Zertrümmerung der Membran gewonnen werden, wie es bei dem Buchnerschen Verfahren der Gewinnung des Hefepreßsaftes geschieht. In diesem kann dann die Tryptase leicht an ihren Eiweiß verdauenden und Gelatine verflüssigenden Eigenschaften erkannt und nachgewiesen werden. Als wirksames diffundierendes Enzym erscheint die Hefetryptase auch dann, wenn die Zellen mit Chloroform behandelt und so getötet werden.

Durch Endotryptasewirkung entsteht bei der Selbstverdauung der Hefe eine Reihe von Spaltungsprodukten, die für die einzelnen Hefearten kleine Verschiedenheiten aufweisen. Hier sei Schenks Tabelle der Spaltungsprodukte bei der Selbstverdauung einiger Hefegruppen angefügt.

	Obergärige Hefe	Brennereihefe	Kahmhefe
Bernsteinsäure . . .	—	+	+
Milchsäure	nicht geprüft	+	+
Tyrosin	—	+	+
Leuzin	—	+	—
Adenin	+	+	—
Hypoxanthin	Spuren	Spuren	—
Histidin	verloren	—	—
Uracil	—	+	+
Asparaginsäure . . .	+		+
Glutaminsäure . . .	—	vielleicht Spuren	vielleicht Spuren
Arginin	+	—	—
Guanidin	+	—	—
Lysin	+		+
Cholin	verloren	+	+
Tetramethylendiamin .	—	—	+

Neben den Tryptasen finden sich in der Hefe auch Peptasen, die, wie wir schon früher hörten, die bei der Tryptase und Pepsinasespaltung nicht weiter zerlegbaren Abbauprodukte, also Polypeptide ohne natürliche aktive Monaminosäuren, und Peptone abbauen.

Weiter enthalten die Hefezellen **Nuklease**, das Enzym der Spaltung von Nukleinsäure. Ihr kommt ebenfalls ein wichtiger Anteil bei der Autolyse der Hefe zu. Ein weiteres Enzym der Hefen ist die **Arginase**. Außer den genannten Amidasen findet sich in der Hefe auch **Lab**, welches Boullanger und auch Rapp im Hefepreßsaft nachweisen konnten.

Neben den genannten Proteasen und der Koagulase sind an Schizasen oder Hydrolasen noch **Esterasen** und **Karbohydrasen** mehr oder minder zahlreich in den Hefen nachweisbar.

Lipase, also ein fettspaltendes Enzym, findet sich in den Hefen und soll nach Dellbrück insofern von großer Bedeutung sein, als es das Hefefett bei der alkoholischen Gärung unter Bildung von Glyzerin neben Bernsteinsäure und anderen Spaltprodukten abbaut.

In den Hefezellen finden sich dann reichlich Karbohydrasen, deren Tätigkeit sich also gegen Kohlehydrate richtet.

Nach den Untersuchungen von Henry und Auld vermag der Hefepreßsaft und auch Hefe und Azetondauerhefe Amygdalin in Blausäure, Benzaldehyd und Glykose zu spalten, welch letztere gleich weiter in Alkohol und Kohlendioxyd vergoren wird. Damit ist die Anwesenheit einer Glykosidase, der Amygdalase oder des Emulsins, in der Hefe erwiesen. Auch andere Forscher konnten in einzelnen Hefen Amygdalase nachweisen. Allgemein scheint sie also in den Hefen nicht vorzukommen. Die Sache scheint übrigens sehr kompliziert zu liegen, da nach Erwärmung der Hefeauszüge das Emulsin bei 60° zerstört wird, während noch eine Glykosidase dabei erhalten bleibt, die α-Methylglykosid spaltet.

Von Polysaccharasen findet sich in einzelnen Hefen **Amylase**. In Bezug auf die Quantität der Stärke verzuckernden Enzyme sind die dafür in Betracht kommenden Hefearten verschieden. Dextrin spalten besonders kräftig Saccharomyces acetaethylicus, Mycoderma sphaeromyces und endlich Schizosaccharomyces Pombe.

Der Abbau des Glykogens, eines Reservestoffes der Hefe, scheint ebenfalls durch ein besonderes Enzym, die Glykogenase, zu erfolgen. An Abbauprodukten dürften dabei Maltose, Isomaltose und Erythro- und Achroodextrin entstehen, worüber wir aber noch sehr ungenügend unterrichtet sind. Auch über die intra- und extrazelluläre Tätigkeit des Glykogen spaltenden Enzyms herrscht keine Einstimmigkeit, da einerseits Befunde vorliegen, nach denen Hefe in der Nährlösung befindliches Glykogen nicht aufnimmt und spaltet, während der Hefepreßsaft es rasch vergärt, andererseits berichtet wird, daß auch eine Assimilation von im Kultursubstrat befindlichem Glykogen durch Hefe erfolgen soll. Vielleicht sind beide Anschauungen richtig, und für die verschiedenen Befunde nur wechselnde physiologische Zustände der Hefe verantwortlich.

Es wurden auch Hefen bekannt, die Inulin hydrolytisch zu spalten vermögen und dementsprechend **Inulinase** führen. Die Zahl derselben ist sehr gering. Es sind die Logoshefe, der Saccharomyces Marxianus, Schizosaccharomyces mellacei und Schizosaccharomyces Pombe neben einigen weniger bekannten Arten. Die Inulinase spaltet nur Inulin in Fruktose und greift Stärke überhaupt nicht an.

Manche Hefen enthalten aber Trisaccharasen, wie **Raffinase**, durch die Raffinose in Fruktose und Melibiose gespalten wird. So vermag Schizosaccharomyces octosporus nur Raffinose wie angegeben zu zerlegen, greift aber Rohrzucker überhaupt nicht an. Auch die Spaltung der Gentianose in d-Fruktose und Gentiobiose durch Hefe geht auf eine Trisaccharase, die **Gentianase** zurück.

In ihrer Wirkunnsweise stehen die Trisaccharasen der Disaccharase **Invertase** sehr nahe, ohne daß wir aber berechtigt wären, erstere völlig fallen zu lassen und sie mit der Invertase zu identifizieren. Das geht schon daraus hervor, daß der eben genannte Schizosaccharomyces octosporus zwar die Raffinase erzeugt und mit ihr die Raffinose angreift, nicht aber Rohrzucker zu spalten vermag, was geschehen müßte, wenn die Raffinase mit der Invertase identisch wäre. Andererseits vermögen einige Kahmhefen allerdings Rohrzucker zu vergären, führen also Invertase, ohne daß sie auch Raffinose zu spalten und weiter zu verarbeiten vermöchten. Die genannten Befunde zeigen zur Genüge die Richtigkeit der Annahme, daß die Invertase und Raffinase bzw. die Trisaccharase überhaupt, verschiedene Enzyme sind.

Invertase ist in weitaus den meisten Hefen reichlich vorhanden und fehlt nur in dem schon genannten Schizosaccharomyces octosporus, der Hansenia apiculata und zahlreichen Torulaarten. Sie ist ein Endoenzym, das sich aus jungen und gesunden Hefezellen nur in sehr geringer Menge und mit großen Schwierigkeiten gewinnen läßt. Invertase läßt sich aber nach Zertrümmerung der Zellen oder nach Behandlung derselben mit Chloroform, Toluol oder Alkohol und nachheriger Reinigung durch Fällen und Dialysieren ziemlich rein herstellen. Die so erhaltene Invertase ist keine Eiweißsubstanz, enthält aber noch Kohlehydrate. Übrigens scheinen bei den einzelnen Hefearten Verschiedenheiten der Invertase vorzukommen, die sich besonders durch Unterschiede in der Optimaltemperatur darstellen. So liegt letztere bei den untergärigen Hefen sehr viel tiefer als bei den obergärigen.

In einigen Hefen findet sich mehr oder minder reichlich **Laktase**. Dies gilt in erster Linie für die besonders Milchzucker vergärenden Saccharomyzeten, wie Saccharomyces Kefir, Saccharomyces Tyrocola und die armenische Mazunhefe, die hier als bekanntere Beispiele dienen sollen.

Die meisten Hefen führen reichlich **Maltase**, die aber ziemlich stark in den Zellen zurückgehalten wird, außer wenn man dieselben vor der Extraktion mit Wasser trocknet. Erst aus der vorher getrockneten Hefezelle diffundiert sie leicht. Allerdings enthält der so gewonnene Auszug immer auch Invertase, mit Ausnahme desjenigen von Schizosaccharomyces octosporus, der, wie oben gesagt, letztere überhaupt nicht erzeugt. Die Maltase fehlt allen „Milchzuckerhefen", die an ihrer Stelle Laktase führen.

Ein der Maltase nahestehendes Hefeenzym ist die **Trehalase**, die spezifisch auf Trehalose wirkt. Wie schon bei den Bakterienenzymen mitgeteilt, führen dieses Enzym besonders die Hefen vom Typus Frohberg. Es läßt sich aus ihnen aber durch einfache Wasserextraktion nicht gewinnen, ist also ein Endoenzym. Es wurde übrigens auch schon in zahlreichen anderen Saccharomyzeten nachgewiesen. Wegen der großen strukturellen Verschiedenheit der Maltose und Trehalose kann in der Trehalase wohl kaum eine Modifikation der Maltase erblickt werden.

Die untergärigen Bierhefen enthalten endlich noch die Disaccharase **Melibiase**, die aber fast allen obergärigen Hefen fehlt. Auch sie läßt sich nur schwierig aus den Hefezellen mit Wasser ausziehen.

Damit ist die Reihe der in den Saccharomyzeten mehr oder weniger weit verbreiteten und mit Sicherheit nachgewiesenen Schizasen erschöpft.

In Hefen wurden dann noch oxydierende Enzyme, also Oxydasen, nachgewiesen. Wir finden bei einer Art sogar eine kräftige Essigsäurebildung aus Äthylalkohol, die ihren tieferen Grund wohl in einer **Alkoholase** haben wird. Eine andere, nicht Alkohol bildende Hefe, Saccharomyces Hansenii aus Baumwollsaatmehl vermag Dextrose, Gallaktose, Mannit usw. zu Oxalsäure zu vergären. Sie produziert demnach eine **Azidoxydase**. Aldehydasen, also Enzyme, die Salizylaldehyd zu Salizylsäure und Benzylalkohol zu Benzoesäure verbrennen, konnten in Hefen und in Pflanzen überhaupt noch nicht beobachtet werden.

Phenolasen konnten in zahlreichen Hefen nachgewiesen werden.

Hier sei auch auf die sogenannte **„Önoxydase“** hingewiesen, durch die das bekannte „Umschlagen“ oder „Brechen“ des Weines hervorgerufen wird. Diese Oxydase kann durch Fällen mit Alkohol aus solchem Wein gewonnen werden. Ihr wird auch eine wesentliche Beteiligung am „Altern“ des Weines zugeschrieben. Sie ist wenig beständig und wird schon bei 60° vernichtet. Besonders empfindlich erweist sie sich auch gegen schweflige Säure, weshalb sich in geschwefelten Fässern die genannten Weinkrankheiten weniger leicht einstellen. Da nun die in derart erkranktem Wein vorkommenden Mikroorganismen keine Önoxydase zu erzeugen vermögen, dürfte dieselbe eher von den Trauben her in den Wein gelangen als von irgendwelchen Hefen. Wir können sie demnach als Produkt der Weinbeeren oder anderer Organismen ansehen.

Peroxydasen fehlen den Hefen vollends, obwohl sie sonst im Pflanzenreich außerordentlich weit verbreitet sind.

Daß Hefe eine Reihe von Verbindungen reduziert, ist eine bekannte Tatsache. Erwähnt sei hier vor allem die Reduktion von Sulfaten und Thiosulfaten, bei denen Schwefelwasserstoff entsteht. Übrigens beobachtet man Schwefelwasserstoffbildung auch beim Zusatz von Schwefelblumen zu Hefezuchten. Kaliumpermanganat, Chlorate und jodsaure Salze werden ebenfalls reduziert. Auch oxydierte Verbindungen von Tropaeolin, Tetra- und Dimethylparaphenylendiaminchlorid und anderes mehr unterliegt der Reduktion durch Hefe. Man versuchte diese Reduktionserscheinungen auf besondere Enzyme, **Reduktasen**, zurückzuführen. Das **Philotion**, das Schwefelwasserstoff bildende Enzym, sei hier erwähnt. Wahrscheinlich haben die Reduktionen nicht in besonderen Enzymen ihre Ursache, sondern in leicht oxydablen Gruppen der Eiweißkörper.

Die Hefe ist auch reich an **Katalase**, also jenem Enzym, das Wasserstoffperoxyd in Wasser und molekulären Sauerstoff zerlegt.

Über die **Hefezymase** haben wir das Wichtigste schon bei den Bakterienenzymen gehört.

Die **Farbstoffe** der Hefen und Torulaceen sind noch keineswegs hinlänglich untersucht, um über sie irgend etwas Genaueres aussagen zu können. Farbstoffbildende Hefen sind aber bekannt geworden.

Am Schlusse der Besprechung der Chemie der Hefezelle sei noch kurz auf **Riechstoffe** hingewiesen, die durch Hefen erzeugt werden. Aus der Hefe konnte ein ätherisches Öl in außerordentlich geringer Menge gewonnen werden, das in konzentriertem Zustande nach Hyazinthen roch. Sehr verdünnt gab es einen Geruch, der demjenigen der frischen Hefe entsprach. Auch Fruchtätherbildung wurde an Hefen häufig beobachtet.

Literatur zur Vorlesung XXVI.

Kohl, F. G., Die Hefepilze, ihre Organisation, Physiologie, Biologie und Systematik, sowie ihre Bedeutung als Gärungsorganismen.
Fischer, H., Die chemischen Bestandteile des Schizomyceten und der Eumyceten. Lafar's Handbuch d. techn. Mykologie, Bd. I, S. 222.
Oppenheimer, C., Die Fermente und ihre Wirkungen Leipzig 1910.

SIEBENUNDZWANZIGSTE VORLESUNG.

Physiologie und Biologie der Hefe.

Wie die Bakterien, überhaupt alle Organismen, brauchen auch die Hefen zur Entwicklung und zur Entfaltung der verschiedenartigsten Lebensäußerungen Nahrung. Dieselbe setzt sich aus anorganischen und organischen Verbindungen zusammen, die wieder eine Reihe von unbedingt notwendigen Elementen in ganz bestimmter Bindung enthalten. Die zum Aufbau der Leibessubstanz unerläßlichen Elemente sind Stickstoff, Sauerstoff, Wasserstoff, Kohlenstoff, Kalium, Magnesium, Eisen, Schwefel und Phosphor.

Dieselben werden teils als organische Verbindungen, wie Kohlehydrate und Abkömmlinge oder Bruchstücke der Eiweißkörper von den Hefen unmittelbar oder nach voraufgegangener Spaltung aufgenommen und assimiliert, teils in Form von Salzen mit anorganischen und organischen Säuren, wobei als Lösungsmittel immer Wasser reichlich zugegen sein muß.

Zunächst wollen wir uns mit der anorganischen Nahrung kurz befassen.

Wie schon gesagt, gehört das **Kalium** zu den lebenswichtigen und unerläßlichen Baustoffen. Dasselbe kann durch Natrium, Kalzium, Lithium keinesfalls ersetzt werden. Allerdings genügen schon sehr geringe Mengen von Kalium, um das Hefenwachstum zu ermöglichen. Größere Gaben wirken als Gift und unterdrücken oder verzögern nicht nur das Wachstum und die Vermehrung, sondern wirken auch ungünstig auf die Gärtätigkeit. Am besten eignet sich für die Kaliumzufuhr das Chlorid und Phosphat.

Das **Magnesium**, besonders im Magnesiumsulfat, ist zum Wachstum ebenfalls unumgänglich notwendig. Es übt auch nach neueren Untersuchungen einen wesentlichen Einfluß auf die Farbstoffbildung der Hefen aus und lenkt dieselbe in ganz bestimmte Bahnen. Es kann durch Kalzium nicht vertreten werden, obwohl letzteres als Phosphat oder Chlorid das Wachstum der Hefe und auch ihre Gärtätigkeit in hervorragendem Maße fördert.

Schwefel und **Phosphor** haben wir ebenfalls als unerläßliche Baustoffe kennen gelernt. Dieselben stehen den Hefen in den oben angeführten Salzen bereits in genügender Menge zur Verfügung. Jedenfalls werden dieselben aber auch aus organischen Verbindungen bezogen, wie es beim Wachstum der Hefe in Bierwürze geschieht.

Ob auch **Eisen** ein zur Hefeentwicklung unbedingt notwendiger Bestandteil der Hefenahrung ist, kann noch keineswegs mit Sicherheit erklärt werden. Auffallend ist es jedenfalls, daß man das Nukleoproteid der Hefe eisenhaltig fand, so daß an die Möglichkeit gedacht werden muß, daß Eisen ein wichtiger Bestandteil der Hefenukleinsäure ist. Durch Eisen wird auch das Wachstum der Hefe gefördert und besonders die Teilungsgeschwindigkeit derselben wesentlich erhöht, sodaß durch Eisengaben die Hefeernte entschieden bedeutend vergrößert wird. Dies gilt besonders für die Darreichung des Eisens in Form von Ferrosulfat, aber weniger für diejenige in Form des Chlorides.

Sowie den Bakterien, muß auch der Hefe eine ausreichende Menge von **Wasser** zur Verfügung stehen. Die Nahrungsstoffe müssen darin gelöst dargereicht werden. Das beste Wachstum und die größte Hefeernte erhält man dementsprechend auch bei der Zucht derselben in Nährlösungen.

Der **Stickstoffbedarf** der Hefe kann nun in verschiedener Weise gedeckt werden: jedenfalls muß aber gebundener Stickstoff gegeben werden. In bezug auf die Art der assimilierbaren Stickstoffverbindungen erweisen sich die obergärigen Hefen am wählerischesten, während die untergärigen Hefen in dieser Hinsicht leichter zu befriedigen sind. Im allgemeinen sind die Amide die den Hefen zuträglichsten und von ihnen am besten und leichtesten assimilierbaren Stickstoffverbindungen. Dies gilt ganz besonders für die Kulturhefen, also Bier-, Wein-, Brennerei- und Preßhefen. Peptone werden fast ebenso gut verarbeitet, nachdem sie vorher von den Hefen in Amide gespalten worden sind. Nitrate können im allgemeinen den Hefen nicht als Stickstoffquellen dienen. Eine Ausnahme macht nur der Saccharomyces acetaethylicus, der auch mit Nitraten als Stickstoffnahrung vorlieb nimmt. Ammonsalze werden im allgemeinen von Kahmhefen assimiliert.

Ürigens herrscht ein inniger Zusammenhang zwischen der Ausnutzbarkeit einer Stickstoffquelle und den gleichzeitig zur Verfügung stehenden Kohlenstoffquellen. Es können durch Variierung der letzteren erhebliche Änderungen in der Art der brauchbaren Stickstoffverbindungen herbeigeführt werden, wie daraufhin angestellte Versuche ergaben.

In bezug auf besondere **Kohlenstoffquellen** erweisen sich die einzelnen Hefespezies als mehr oder minder wählerisch. Peptone und Asparagin sind Nahrungsmittel für die Hefe, die ihren Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf gleichzeitig zu decken vermögen. Wir haben es daher nicht unbedingt nötig, bei der Darreichnung der genannten Nahrungsstoffe in allen Fällen auch noch eine besondere Kohlenstoffquelle beizugeben. Die Ernährung geht auch ohne sie glatt von statten, wenn auch meistens die Vermehrung keine so üppige ist. Ähnliche kombinierte Stickstoff- und Kohlenstoffquellen haben wir ja auch für die Bakterien kennen gelernt. Es sind rein genetische Kohlenstoff- und Stickstoffquellen, die den zum Aufbau der verbrauchten Leibessubstanz und zum Ansatz derselben bei der Vermehrung notwendigen Kohlenstoff und Stickstoff liefern. Erst bei der Darreichung des Stickstoffes in einfacheren Verbindungen müssen wir noch eine besondere assimilierbare Kohlenstoffquelle beifügen, um Vermehrung und

Wachstum, überhaupt einen normalen Stoffwechsel, zu ermöglichen. Aber auch in diesem Falle spielen die Dextrose und Lävulose als Kohlenstoffquellen die erste Rolle, da allem Anschein nach gerade diese Zucker und nur diese unmittelbar assimilationsfähig sind. Damit soll aber keineswegs gesagt sein, daß als Kohlenstoffquelle nur Traubenzucker gegeben werden kann. Im Gegenteil, es gibt zahlreiche Hefen, die ihren Kohlenstoffbedarf auch aus Polysaccharosen usw. zu decken vermögen. Wir haben eine Reihe von Enzymen kennen gelernt, die alle hydrolytische Spaltungen solcher Verbindungen herbeiführen, wobei immer Glykose als ein Spaltprodukt ensteht. Dieselbe ist dann das unmittelbar assimilierbare Kohlehydrat.

Die Quantität der notwendigen Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen ist sehr gering. Wir pflegen bei allen unseren Züchtungsversuchen von Hefen im Laboratorium viel zu hohe Konzentrationen, besonders der Kohlenstoffnahrung, zu verwenden, sofern wir eben nur Wachstum und Vermehrung zu erreichen wünschen. Anders sind die Verhältnisse, wenn gleichzeitig eine kräftige Vergärung von Zucker zu Alkohol und Kohlensäure herbeigeführt werden soll, wie es in der Praxis der Wein- und Bierherstellung und Brennerei geschieht. Deshalb kann eine kräftige Vermehrung der Hefe wohl von statten gehen, ohne daß überhaupt eine alkoholische Gärung eintritt. Dieselbe ist durchaus kein für die Zelle irgendwie lebenswichtiger Vorgang. Durch diese beim Vorhandensein von überflüssigen Mengen gärfähiger Zucker eintretende Nebenerscheinung der alkoholischen Gärung erwächst der Hefe für die Dauer kaum irgend ein besonderer Vorteil, da dieselbe in dem selbst erzeugten Gift im Wachstum gehemmt und schließlich vernichtet wird. Nur im Anfang bietet eine geringe Menge von Alkohol in den Kulturen höchstens den Vorteil, daß andere, alkoholempfindlichere Organismen im Wachstum zurückgehalten werden und die Hefe eher die Oberhand gewinnt. Der Alkohol ist auch für die Hefe und für die meisten Bakterien ein ebenso heftiges Plasmagift, wie für die Zellen der höheren Organismen. Man bezeichnet die für eine bestimmte Hefe gärfähigen Kohlehydrate auch als „zymotische Nahrung" zum Unterschied von der schon früher genannten „genetischen Nahrung", die allein für das Wachstum unerläßlich und bedeutungsvoll ist.

Man hat nun verschiedene Zucker und Glyzerin in bezug auf ihre Brauchbarkeit als Kohlenstoffquellen für einzelne Hefearten untersucht und die spätere kleine Tabelle soll in diese Verhältnisse einen Einblick gewähren.

Die Ergebnisse derselben wurden durch Züchtungsversuche unter Anwendung der Auxanographie Beijerinck's erhalten. Im wesentlichen besteht die auxanographische Methode darin, daß man sich für die zu untersuchende Hefeart ein bei Zimmertemperatur erstarrendes Nährsubstrat zusammensetzt, das zwar alle notwendigen mineralischen Nährstoffe und eine zugängliche Stickstoffverbindung enthält, aber keine besondere Kohlenstoffquelle. In diesen sterilen Nährboden verimpft man die zu untersuchende Saccharomyzetenart und gießt dann damit in Petri'sche Schalen Platten. Nach dem Erstarren bringt man Tropfen der Lösungen verschiedener Kohlehydrate darauf und beobachtet, ob dadurch Wachstum ermöglicht wird oder nicht. Tritt Wachstum ein oder wird dasselbe an denjenigen Stellen besonders ge-

fördert, wo der aufgebrachte Tropfen liegt, so kann daraus geschlossen werden, daß das zugesetzte Kohlehydrat eine ausnutzbare Kohlenstoffquelle für die betreffende Hefeart vorstellt.

Beijerinck verwendet eine Gelatine folgender Zusammensetzung:

Gelatine	100 g
Monokaliumphosphat . . .	0,5 g
Ammoniumchlorid	0,5 g
Leitungswasser	1000 ccm.

Die käufliche Gelatine muß vor der Verwendung zum obigen Nährboden mit kaltem destilliertem Wasser gut ausgewaschen werden, um die löslichen Bestandteile derselben möglichst zu entfernen. Für gewisse Hefen, wie Saccharomyces apiculatus, Saccharomyces fragrans oder Saccharomyces Kefir muß an Stelle des Ammoniumchlorides Pepton oder Asparagin in einer Menge von 10 bzw. 5 g treten, da für diese Arten das genannte Ammonsalz keine ausnützbare Stickstoffquelle ist.

Nach diesem Verfahren untersucht ergaben sich für einzelne Hefearten folgende Kohlehydrate als brauchbare Kohlenstoffquellen, bei denen ein +-Zeichen eingesetzt ist. Das Zeichen — bedeutet, daß das betreffende Kohlehydrat nicht angegriffen wird.

Nr.	Hefezspezies:	Dextrose	Lävulose	Saccharose	Laktose	Maltose	Dextrin	Gruppenbezeichnung
1.	Saccharomyces apiculatus . . .		[illegible]	—	—	—	—	Glukosehefen
2.	Saccharomyces fragrans . . .	[illegible]	[illegible]		—	—	—	Saccharosehefen
3.	Saccharomyces cerevisiae . . .	[illegible]			—			Maltosehefen
4.	Saccharomyces ellipsoideus . .	+	[illegible]		—	[illegible]	—	Maltosehefen
5.	Saccharomyces Kefir	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	—	—	Laktosehefen
6.	Saccharomyces Tyrocola . . .	[illegible]	[illegible]	[illegible]		—	—	Laktosehefen
7.	Saccharomyces acetaethylicus .	[illegible]	[illegible]	[illegible]	—	[illegible]		Polysaccharosehefen
8.	Saccharomyces Pastorianus Rees	[illegible]		[illegible]	[illegible]			Polysaccharosehefen

In bezug auf die Kohlenstoffquelle am wählerischsten und anspruchvollsten sind wohl diejenigen Saccharomyzeten, welche nur Dextrose und Lävulose als Kohlenstoffquelle auszunutzen vermögen. Man bezeichnet sie auch kurzweg als Glukosehefen, die also eine physiologische Gruppe bilden. Ihnen fehlen auch alle jene Enzyme, die die anderen genannten Kohlehydrate zu hydrolysieren vermögen.

Dann sehen wir eine Hefe verzeichnet, die außer Dextrose und Lävulose nur Rohrzucker zu verarbeiten vermag, den sie mit Hilfe ihrer Invertase hydrolysiert. Wahrscheinlich ist auch bei ihr, wie bei allen folgenden, nur der Invertzucker unmittelbar assimilationsfähig und nicht etwa schon der Rohrzucker selbst. Man bezeichnet die außer Invertzucker nur Saccharose ausnützenden Hefen auch als Saccharosehefen.

Wir finden weiter Hefen, die allerdings Dextrose, Lävulose, Rohrzucker und Maltose als Kohlenstoffquelle verwenden können, andere aber nicht. Sie vereinigt man zur Gruppe der Maltosehefen.

Wieder andere Saccharomyzeten greifen Maltose nicht an, wohl aber Milchzucker. Sie bilden die Gruppe der Laktosehefen.

Dextrin neben den anderen genannten Kohlehydraten wird nur von wenigen Hefen ausgenützt, die man in der Gruppe der Polysaccharosehefen vereinigt.

Allen Saccharomyzeten dient aber Dextrose und Lävulose als ausgezeichnete Kohlenstoffquelle. Wenn wir uns an die verschiedenen Karbohydrasen erinnern, mit Hilfe derer die Hefen die Kohlehydrate abbauen, so kommen wir zum Ergebnis, daß bei diesen hydrolytischen Spaltungen von Laktose, Maltose usw. immer Glykose mindestens als ein Spaltprodukt entsteht. Dieser Umstand rechtfertigt die obige Annahme zur Genüge, daß eben nur Dextrose und Lävulose als unmittelbar assimilierbare Kohlenstoffquellen angesehen werden dürfen.

Außer den genannten Kohlenstoffquellen kommen noch als solche organische Säuren in Betracht, wie Zitronensäure, Apfelsäure, Weinsäure, Bernsteinsäure und Ameisensäure, von denen die erstgenannte wohl am leichtesten und die letztgenannte am wenigsten assimiliert wird. Glyzerin stellt für Hefen eine nur sehr minderwertige Kohlenstoffquelle vor. Auch einige wenige Glykoside kommen als sehr untergeordnete Kohlenstoffquellen in Betracht.

Die genannten Nährstoffe der Hefe müssen derselben in gelöstem Zustande zur Verfügung gestellt werden. Als Lösungsmittel kommt ausschließlich **Wasser** in Betracht. Dasselbe muß immer in reichlicher Menge zugegen sein, einerlei ob man zur Zucht flüssige oder gallertige Nährböden benutzt.

Von einschneidender Bedeutung für das Hefewachstum ist auch die chemische **Reaktion** des Nährsubstrates. Wir haben gehört, daß die meisten Spaltpilze eine leicht alkalische Reaktion bevorzugen, wenn auch sehr geringe Mengen von freier Säure in den meisten Fällen das Wachstum nur wenig verlangsamen. Die Sproßpilze lieben im allgemeinen eine schwachsaure Reaktion des Nährbodens. In bezug auf die Menge freier Säure und ihre Art erweisen sich die einzelnen Hefearten allerdings verschieden. Auch wird ihr Verhalten noch durch die vorhandenen übrigen Nährsubstratbestandteile nicht unwesentlich beeinflußt. Viele organische Säuren dienen geradezu als Kohlenstoffquelle für manche Arten. So kann der Saccharomyces mycoderma freie Milchsäure gut verarbeiten. Im allgemeinen sind den Hefen am leichtesten Zitronensäure und Apfelsäure zugänglich, von denen sie im Kultursubstrat beträchtliche Mengen vertragen. Bedeutend weniger ausnutzbar ist die Weinsäure und Bernsteinsäure, weshalb größere Mengen im Nährboden wachstumshindernd wirken. In geringer Menge kann auch Ameisensäure vorhanden sein, die ebenfalls in sehr verdünntem Zustande (4 bis 7 pro Mille) für die Hefe ausnützbar ist. Die meisten anorganischen Säuren werden nur in sehr verdünntem Zustande vertragen, worüber wir später noch näheres erfahren werden.

Wie bei den Bakterien, überhaupt allen Organismen, verläuft der gesamte Lebensprozeß der Hefezellen in einem ständigen

Aufbau- und Abbauvorgang, der Assimilation und Dissimilation. Erstere haben wir soeben kennen gelernt bzw. diejenigen Elemente und Verbindungen, die dazu verwendbar sind. Das tiefere Wie der Assimilation ist auch für die Hefen noch ungelöst. Wir kennen noch nicht die tieferen Ursachen derselben und die Einzelvorgänge, wir sehen nur gewisse Verbindungen aus dem Nährsubstrat verschwinden und andere Substanzen, Plasma, Zellhaut und Reservestoffe als Endprodukte der Assimilation auftreten. Die verschiedenen Zwischenprodukte und solche müssen jedenfalls gebildet werden, sind uns so ziemlich unbekannt. Vielleicht wird auch hier die experimentelle Synthese eher zum Ziele führen als die Analyse des fertigen Endproduktes.

Bei der Dissimilation entstehen ebenfalls eine Reihe verschiedener chemischer Verbindungen aus den einzelnen Leibesbestandteilen, die meist sehr tief bis zu den einfachsten Bausteinen zerlegt werden. Meist handelt es sich dabei um hydrolytische Spaltungen, die durch die uns schon bekannt gewordenen Enzyme unterhalten und befördert werden. Diese Spaltungen liefern auch für die Zelle nicht mehr brauchbare Abfallstoffe, die meist entweder schon stabile chemische Verbindungen sind oder rasch in solche übergehen. Ein großer Teil dieser Abbauprozesse liefert nun die Energie, welche die Zelle zu ihrer synthetischen Arbeit und zur Erhaltung aller anderen Lebensäußerungen braucht. Wir werden demnach alle Abbauprozesse als für die Zelle energieliefernd betrachten dürfen, bei deren Ablauf keine Wärme frei wird. Wird Wärme frei, also Energie in Wärme umgesetzt, die wir messen und nachweisen können, so bedeutet das für den Zellhaushalt einen Energieverlust. Nur das Plus von Energie, das nicht in Form von Wärme zutage tritt, kommt der Zelle voll zugute. Als besonderen Dissimilationsvorgang betrachtet man die **Atmung**, deren Definition wir bereits bei den Bakterien gegeben haben. Auch die Hefe atmet und baut dabei Teile ihrer Leibessubstanz unter Oxydation zu Kohlensäure und Wasser ab. Die Hefe vermag auch unter Ausschluß von freiem Sauerstoff intramolekulär eine gewisse Zeit zu atmen, ein Vorgang, der neben der alkolischen Gärung, die bekanntlich am Zuckermolekül einsetzt, verläuft. Gerade die mit der Hefe angestellten Atmungsversuche verleiten zur Gleichstellung von intramolekularer Atmung oder Atmung überhaupt und alkoholischer Gärung. Dieselbe ist aber absolut unhaltbar und unberechtigt, denn beides sind, wie schon einmal dargetan, zwei voneinander vollkommen unabhängige Vorgänge, von denen gerade die alkoholische Gärung gewiß ein nicht unbedingt notwendiger Lebensvorgang ist, sondern vielmehr eine bei den verschiedenen Sproßpilzen nebenhergehende Erscheinung. Dieselbe findet sich bei den verschiedenen Hefen verschieden intensiv, abgesehen davon, daß einige Arten überhaupt nicht alkoholbildend sind. Außerdem können selbst die Alkohol erzeugenden Hefen auch ohne diese Funktion üppig gedeihen und atmen gewiß normal. Ganz abgesehen davon, daß die Atmung infolge der dabei auftretenden Wärme frei machenden Oxydationen gar nicht in der Lage ist, nennenswerte Energiemengen dem Hefeorganismus zur Verfügung zu stellen, selbst wenn sie Plasmasubstanz oxydativ abbaut, ist sie zur Energielieferung noch weniger befähigt, wenn sie eingeführten

Zucker unmittelbar durch eine alkoholische Gärung und Weiteroxydation des gebildeten Alkohols zu Wasser und Kohlensäure über eine Reihe von Zwischenprodukten zerlegen würde. Diese stufenweise Verbrennung liefert allerdings, wie es sich experimentell dartun läßt, eine gewisse Wärmemenge, die als Wärme frei wird. Wie schon oben gesagt, nützt dem Organismus die dabei entstehende Wärme in bezug auf seinen Energiehaushalt gar nichts. Die im Zuckermolekül gespeicherte Energie tritt uns quantitativ als Wärme entgegen und ist somit für die Zelle verloren, sobald sie von uns während des Wachstums kalorimetrisch bestimmt werden kann, also in dieser Form zur Wahrnehmung gelangt. Soll der Organismus mit Energie reichlich versorgt werden, so darf die für ihn in Frage kommende Energiemenge nicht in Form von Wärme auftreten, sondern von anderen Kräften, deren Maß uns die Teilungsgeschwindigkeit der Zellen und die Raschheit des Wiederaufbaues der verbrauchten lebenden Materie abgibt. Nur wenn die Atmung zu keiner Wärmeproduktion führen würde, dann hätten wir guten Grund und ein Recht, in ihr die oberste und beste Energiequelle zu erblicken.

Gerade die Hefe gilt als klassisches Beispiel für den Beweis der Annahme, daß sich Atmung und alkoholische Gärung in den meisten Punkten decken soll. Man geht sogar soweit, in dem Glykogen der Hefe das einzige Atmungsmaterial anzunehmen und hat auch Schemata aufgestellt, die das Wesen der Atmung und den Ablauf der dabei auftretenden oxydativen Vorgänge erschöpfen sollen. Darnach ist die Zymase das für die Atmung wichtige Enzym, das zuerst den Zucker in die Atomkomplexe $CH_2OH-CHOH-COH$ spaltet. Allerdings könnte auch auf andere Weise die Zuckerspaltung vor sich gehen. Diese Gruppen soll das Plasma aufnehmen, verarbeiten und schließlich als Glykogen in Vakuolen in der Zelle ausscheiden. Erst das Glykogen soll dann veratmet werden können, nachdem es durch eine Karbohydrase, die vorläufig nicht näher untersucht ist, in Glykose umgewandelt worden ist. Die Glykoseveratmung liefert dann Kohlensäure und Wasser unter Aufnahme von Sauerstoff, der durch einen Sauerstoffüberträger, also mit Hilfe einer Oxydase, eingeführt wird. Diese Oxydation mit dem von außen zugeführten Sauerstoff ist allerdings die Ursache einer ausgiebigen Wärmeabgabe, die zu beträchtlichen Temperaturerhöhungen Anlaß gibt.

Einer tieferen Überlegung der bei dem Erscheinungskomplex, den wir Atmung zu nennen gewohnt sind, auftretenden Vorgänge hält die obige Glykogenatmungstheorie durchaus nicht stand. Diese Verquickung von alkoholischer Gärung und Atmung schafft eine Reihe von Unklarheiten und entspricht in keiner Weise den objektiven Befunden, die jetzt immer noch in einer gewissen Richtung und zur Unterstützung derselben gedeutet, aber nicht vorurteilslos betrachtet werden. Schon der Umstand, daß zahlreiche Hefen überhaupt niemals Glykogen speichern oder erzeugen, doch Zucker vergären und atmen, nimmt dieser Theorie wesentlich an Boden. Außerdem tritt die Glykogenspeicherung nur bei der Gegenwart größerer Zuckermengen auf, während sie bei geringem Zuckerzusatz zum Nährsubstrat trotz bestem Wachstumes ausbleibt. Dies würde also eine Verminderung oder ein Aussetzen der Atmung bedeuten. Das Wachstum wäre also von der Atmung ziemlich unabhängig und die Notwendigkeit derselben sehr in Frage gestellt. Es ließen sich aber noch viele andere

Gegeneinwände erheben und eine tiefere Betrachtung dieses Problems würde zu sehr eigenartigen und mit den Tatsachen nicht mehr in Einklang zu bringenden Schlüssen führen.

Unter Festhaltung einer Trennung von Atmung und alkoholischer Gärung wird es bei den alkoholbildenden Hefen schwer, aus dem sogenannten Atmungskoeffizienten, dem Verhältnis der in einer bestimmten Zeit ausgehauchten Kohlensäure zu dem in derselben Zeit aufgenommenen und verbrauchten Sauerstoffe $CO_2 : O_2$) besonders viel zu schließen. Man kann höchstens sagen, daß mit zunehmender Temperatur innerhalb der für den Organismus überhaupt erträglichen Temperaturgrenzen eine Steigerung der Atmungsintensität erfolgt. Gewisse Gifte, wie salpetersaures Kokain oder Strychnin, wirken, in kleinen Dosen gegeben, ebenfalls fördernd auf die Atmung ein. Das Gleiche gilt für Ozon, einige Metallsalze und auch für Alkalien in sehr verdünntem Zustande. Sehr verdünnte Säuren sollen dagegen die Atmung herabsetzen, was auch einen allgemeinen Hungerzustand der Hefe zur Folge hat.

Neben der Atmung treten in der Hefe, wie in jeder anderen lebenden Zelle, noch zahlreiche andere Abbauprozesse ein, die ebenfalls zur Dissimilation gehören und einen wichtigen Faktor im Zellenleben und Zellenhaushalt spielen. Bei den die Eiweißstoffe der Hefe betreffenden Abbauvorgängen treten auch eine Reihe von Produkten auf, die man kurzweg als „**Fuselöle**" bezeichnet und deren Anwesenheit in größerer Menge mitunter im technischen Gärungsbetrieb sehr unerwünscht ist. Den Hauptbestandteil der Fuselöle bildet der **Amylalkohol** bzw. Isoamylalkohol, der besonders reichlich unter Abschluß des Luftsauerstoffes und bei höheren Temperaturen von den Hefen gebildet wird. Als Ausgangspunkt gilt das Leuzin und Isoleuzin, also Spaltungsprodukte des Eiweißes. Bisher wurde die Bildung des Amylalkohols nur mit lebenden Zellen erhalten, womit aber nicht gesagt sein soll, daß dabei nicht etwa auch Enzyme tätig sein könnten. Nach Ehrlich entsteht aus Leuzin beim Abbau desselben durch eine Amidase eine Oxysäure. Der Amylalkohol wird dann über den Isovaleraldehyd gebildet, wobei als Nebenprodukt auch gleichzeitig Ameisensäure auftritt. Damit fällt auch die früher herrschende Anschauung über die Entstehung der Fuselöle, nach der dieselben als Gärungsprodukte bei der alkoholischen Hefegärung angesehen wurden.

Die alkoholische Gärung ist, wie schon oben angedeutet, als ein neben dem normalen Stoffwechsel einhergehender Vorgang anzusehen, der bei der Anwesenheit gärfähiger Kohlehydrate in den Vordergrund tritt. Die Gärungspraxis richtet naturgemäß ihr Hauptaugenmerk auf einen Ablauf der alkoholischen Gärung ohne Bildung besonderer Mengen von unerwünschten Nebenprodukten, wie es die Bestandteile des „Fuselöles" sind. Das Entstehen des Hauptbestandteiles desselben, des Amylalkohols, haben wir oben näher beleuchtet und als Ursache des letzteren den Stoffwechsel und nicht die alkoholische Gärung erkannt. Letztere verläuft aber auch nicht glatt und liefert neben Alkohol und Kohlensäure noch eine wechselnde Menge von Nebenprodukten, die hier kurz erörtert seien.

Dazu muß aber gleich bemerkt werden, daß durchaus nicht die gesamte Menge der einzelnen Nebenprodukte ihren Ursprung der alkoholischen

Gärung verdankt, sondern ein großer Teil derselben auch im normalen Stoffwechsel als Dissimilationsprodukte auftreten. Auch die Versuche mit der zellenfreien Gärung unter Anwendung von Hefepreßsaft vermögen eine glatte Trennung der Stoffwechselprodukte und Gärungsprodukte der alkoholischen Gärung nicht herbeizuführen, da der Hefepreßsaft immer noch neben der Zymase die für den Stoffwechsel und die Ernährung überhaupt wesentlichen Enzyme in wirksamem Zustande enthält. Vom praktischen Gesichtspunkte aus betrachtet, kann man alle Nebenprodukte als solche der Gärung ansehen, da es sich bei den Gärungsbetrieben immer um lebende Hefezellen handelt.

Unmittelbar vergärbar sind nur Hexosen, wie Dextrose und Lävulose. Alle anderen Zucker müssen zuvor in solche durch besondere Enzyme hydrolytisch gespalten werden. Die verschiedenen Heferassen erzeugen nun bei der Gärung verschiedene Mengen von flüchtigen Säuren, von denen die Essigsäure wohl immer nachzuweisen ist. Außerdem entstehen durch die gärende Hefe regelmäßig mehr oder minder große Quantitäten von Estern (flüchtige und nichtflüchtige), unter denen der Essigester wohl am verbreitetsten ist. Durch sie bekommt das endgültige Gärprodukt in vielen Fällen den es charakterisierenden Geschmack und Geruch. Als regelmäßiger Befund bei der alkoholischen Gärung ist auch das Auftreten von Aldehyden, besonders Azetaldehyd, anzusehen, die Zwischenprodukte zwischen Fettsäuren und Alkoholen vorstellen. Wir haben ja bei der Essigbildung aus Alkohol als intermediäres Produkt Alzetaldehyd kennen gelernt. Auch bei der Hefe scheint dieses Nebenprodukt dann ganz besonders in den Vordergrund zu treten, wenn während des Gärverlaufes eine reichliche Lüftung, also Versorgung mit Sauerstoff, herrscht und sich Hefevegetationen als Hautbildungen an der Oberfläche reichlich ansiedeln. Es kann in diesem Falle der Äthylalkohol in statu nascendi leicht weiter zu Aldehyd oxydiert werden. Unter diesen Umständen werden von den Brennereihefen besonders große Mengen Azetaldehyd erzeugt, wie die Untersuchungen von Raymann und Kruis ergaben. Obwohl Milchsäure das Zwischenprodukt bei der Vergärung von Hexosen zu Äthylalkohol ist, so konnte sie bei der Gärung durch lebende Hefe zwar nicht nachgewiesen werden, wohl aber als Nebenprodukt bei der zellenfreien Gärung durch Hefepreßsaft. Bernsteinsäure ist auch ein ständiges Nebenprodukt der alkoholischen Gärung, wenn auch deren Menge großen Schwankungen unterliegt. Weiter kann das Auftreten von Glyzerin bei der Gärung als konstant gelten. Die gebildete Menge ist ebenfalls sehr schwankend und hängt einerseits von der Zusammensetzung des Nährsubstrates und andererseits von der Art der Hefe ab. Ganz allgemein kann der Satz gelten, daß reichliche Ernährung der Hefe zu einer kräftigen Glyzerinbildung Veranlassung gibt, die noch durch erhöhte Gärtemperatur vermehrt wird. Es findet übrigens bei der Weingärung eine weitaus größere Glyzerinbildung statt, als beispielsweise bei der Biergärung.

Nicht unerwähnt sei, daß als Nebenprodukt mitunter auch Methylalkohol beobachtet wurde. Dies gilt vornehmlich für Gärungen von Fruchtsäften, wobei die Glykoside wahrscheinlich die Ursprungssubstanz vorstellen. Bei der alkoholischen Gärung entstehen in sehr geringen

Mengen mitunter auch Propylalkohol aus Milchsäure und endlich Butylalkohol.

Wir haben schon früher gehört, daß Ammoniumsalse, z. B. Ammoniumchlorid, und Asparagin nur sehr minderwertige Sticktoffquellen für die Mehrzahl aller Hefen darstellen. Es hat sich nun gezeigt, daß mineralische Nährlösungen unter Zusatz von Zucker als besondere Kohlenstoffquelle nur dann ein stärkeres Wachstum von Hefe zulassen, wenn eine reichliche Einsaat erfolgt, während bei der Verimpfung von einzelnen oder nur wenigen Zellen überhaupt keine Entwicklung derselben zu beobachten ist. Es bildet sich dementsprechend auch kein Hefefleck aus, wie man jene schon makroskopisch sichtbare Zusammenlagerung von Hefezellen nennt, die dadurch zustande kommt, daß bei der Einsaat einer einzigen Zelle in der ruhenden Nährflüssigkeit sich um diese Zelle herum am Boden des Gefäßes die entstehenden Hefezellen ansammeln. Aus den Versuchen von Wildiers, die Hefe in mineralischer Nährlösung, die Ammoniumchlorid als Stickstoffquelle und Zucker als Kohlenstoffquelle enthält, zu züchten, wurde geschlossen, daß eine besondere, nicht näher gekannte Substanz, Bios genannt, in der Nährlösung notwendig sei, um ein Hefewachstum zu ermöglichen. Diese mystische Substanz ist in Peptonen und komplizierten, gut zugänglichen Sticktoffquellen und auch in der Hefe, bzw. deren Extrakten, vorhanden, denn in peptonhaltigen Nährlösungen und in solchen mineralischen, denen Hefeextrakt zugesetzt worden war, entwickelt sich auch bei Einsaat einer einzigen Zelle ein Hefefleck und es entsteht eine normal gärende und wachsende Kultur. Die Wildiers'schen Befunde des Nichtwachsens und des Unvermögens, ja Absterbens einer oder weniger in eine mineralische Nährlösung übertragener Hefezellen fand von mehreren Seiten eine Bestätigung. Wenn wir uns vor Augen halten, daß bei der Einsaat von einer Zelle oder nur wenigen Individuen kaum Spuren des ursprünglichen guten Nährsubstrates mit übertragen werden und die vorhandene Stickstoffquelle, also das verwendete Ammoniumchlorid, für die allermeisten Hefen gänzlich unbrauchbar ist, so kann es durchaus nicht wundern, daß keine Entwicklung statthat und die wenigen vorhandenen Zellen endlich zugrunde gehen. Wenn wir weiter uns ins Gedächtnis zurückrufen, daß zur Ernährung von Mikroorganismen nur sehr geringe Mengen gut ausnutzbarer Kohlen- und Stickstoffverbindungen neben den notwendigen mineralischen Bestandteilen vorhanden sein müssen, so wird es verständlich, daß bei einer großen Hefeaussaat oder Zusatz von Hefeextrakt bei kleiner Aussaat auch in den sonst nicht nährenden Lösungen Kulturen angehen. Das Ammoniumchlorid ist ja nach zahlreichen Versuchen eher als Gift für die meisten Hefen zu betrachten als eine ausnutzbare Stickstoffquelle. Die große Einsaat von vielen hundert Exemplaren enthält immer Zellen von verschiedenstem Alter und verschiedener Lebensfähigkeit neben zahlreichen toten Zellen. Die schwachen und alten Zellen werden in der gänzlich ungenügend ernährenden Lösung auch rasch sterben und liefern dann mit ihrem Eiweiß- und Reservematerial und denjenigen der schon im toten Zustande übertragenen Zellen zahlreiche gut nährende Verbindungen, die von den überlebenden und kräftigen Zellen zum Wachstum und zur Vermehrung ausgenutzt werden. Soviel scheint aus allen diesbezüglichen Versuchen hervorzugehen. Es ist damit aber die Annahme

eines besonderen, das Leben der Hefe ermöglichenden Stoffes, des Bios, durchaus nicht begründet. Auch liegt nach den gegebenen Befunden, sofern man nur die Tatsachen sprechen läßt, kein Grund zur Annahme eines so rätselhaften Stoffes vor.

Die einzelnen Hefearten erweisen sich in bezug auf die Stickstoffernährung sehr wählerisch und bevorzugen meist die höheren Verbindungen, wenn sie auch über ein sehr großes Anpassungsvermögen in dieser Hinsicht verfügen, wie gerade auch die in der Beantwortung der Biosfrage vorgenommenen Untersuchungen ergaben. Dieses Anpassungsvermögen ist bei den einzelnen Saccharomyzetenarten aber auch verschieden ausgeprägt. So haben Versuche mit einigen Hefen dargetan, daß sie sich in bezug auf die Stickstoffnahrung an mindere Stickstoffquellen, wie es eben die Ammoniaksalze sind, ziemlich weitgehend anpassen können, während andere Hefen dabei vollends versagen. Es sei hier nur an die Untersuchungen Henry's erinnert, der Entwicklung und Vermehrung verschiedener Hefearten in der Wildiersschen Nährlösung nach Eintragung von etwa drei Tropfen Würzekultur erhielt. Verimpfte er dann von der neuentstandenen Kultur in eine weitere, sterile mineralische Nährlösung, so stellte sich bei einer Einsaat von fünf Tropfen schon weitaus besseres Wachstum ein, als das erste Mal. Auch die Pringsheim'schen Versuche zeigen ein gleiches Verhalten von Hefen bei der Weiterzucht in mineralischen Nährlösungen. Während die in Most vorgezüchteten Hefen bei der Überimpfung von einer Platinöse voll in Wildiers'sche Nährlösung sich erst in 14 Tagen merklich vermehrten und Gärung hervorbrachten, zeigten die aus der genannten Nährlösung in dieselbe weiter verimpften Saccharomyzeten bereits nach 4 Tagen Vermehrung. Allerdings werden von anderen Seiten Anpassungsmöglichkeiten an mineralische Nährlösungen für andere Arten in Abrede gestellt. Diese divergierenden Befunde dürften aber weniger ihren Grund in etwa unterlaufenen Versuchsfehlern haben als vielmehr in der Verschiedenheit des verwendeten Hefenmateriales.

In der freien Natur sind die Hefen außerordentlich weit verbreitet. Ihre Hauptwohnstätte ist die Erde, in der sie sich in den oberen Partien bis etwa 30 cm tief ansiedeln. Der oberflächliche Staub, vom Winde getragen, zerstreut sie über die weiteste Erdoberfläche. Die grundlegenden Untersuchungen Emil Christian Hansens und anderer haben uns über die Biologie der Hefen in der freien Natur ein anschauliches Bild geliefert. Was für die wenigen unmittelbar untersuchten Arten gefunden wurde, kann in diesem Falle wohl mit gutem Grunde bei einiger Vorsicht verallgemeinert werden. Die ersten Versuche beziehen sich auf die kleine, zitronenförmige Weinhefe, Hansenia apiculata. Dieselbe findet sich auf reifenden und reifen Weinbeeren und Beerenobst überhaupt in sehr reichlicher Menge. Außerdem beherbergt die Erde unter diesen Pflanzen ebenfalls diese Hefe. In weiterer Umgebung von denselben und auch auf den unreifen Beeren wird sie nur ausnahmsweise und dann in geringer Menge angetroffen. Speziell in der Erde hängt ihre Menge wesentlich von der Jahreszeit bzw. von der Größe der verflossenen Zeit seit der Beerenreife ab. Durch Insekten und durch den Wind gelangt die Hefe auf die reifen Früchte. Dort entwickelt sie sich reichlich und zeigt sehr gute Vermehrung, besonders in den Rissen und Sprüngen der Beeren, wo für sie ein ausgezeichneter Nährboden ist. Von dort trägt sie der

Wind weiter und spült sie der Regen herunter, wodurch ansehnliche Mengen dieser Hefe wieder in die Erde gelangen und speziell in jene Teile, die sich unmittelbar unter der Pflanze befinden. Auch mit den verletzten und daher abfallenden Beeren kommt sie in sehr großer Menge auf den Boden. Aus diesem Grunde kann man zur Zeit der Reife und unmittelbar nachher auch die größten Hefemengen in dem Boden nachweisen. Später werden die Hefemengen immer kleiner und erreichen ihr Minimum zur Zeit der nächsten beginnenden Beerenreife, um von da ab wieder anzusteigen. Wenn unter günstigen Bedingungen sicher eine ausgiebigere Vermehrung auch noch im Boden statthat, so kann als ausschlaggebende Vermehrungsstätte in der Natur für die genannte Hefe doch die reife Beere angesehen werden, während als ständiger Aufenthaltsort die unter der Pflanze befindliche Erde dient. Die Apikulatushefe hat also ihre Vermehrungsstätte auf reifen, wasserreichen Früchten, wie Kirschen, Pflaumen, Stachelbeeren, Johannisbeeren, Erdbeeren, Weinbeeren usw. Ihre ständige Wohnstätte ist aber der Erdboden, in dem sie auch überwintert. Die Hefe legt so in der freien Natur eine Art Kreislauf zurück, in dem sie vom Boden kurze Zeit behufs kräftiger Vermehrung auf die reife Frucht gelangt und von dort wieder zurück zur Erhaltung der Art in die Erde kommt.

Die größeren Hefen vom Ellipsoideus- und Pastorianustypus sind viel weiter verbreitet, finden sich aber dichter gedrängt in der nächsten Umgebung der Gärten und überhaupt des Kulturlandes, das mit Obst usw. bepflanzt ist. Das sie viel weiter über die Erde verbreitet sind, verdanken sie ihrer großen Widerstandskraft gegen Austrocknung, über die die Apikulatushefe nur in geringerem Grade verfügt. Immer aber sind auch hier die normalen Brutstätten die Früchte, während die abgefallenen Früchte und ihre zufälligen Extrakte, Exkremente, kleine Wasseransammlungen usw. nur als sekundäre und mehr nebensächliche Vermehrungsstätten für die Hefe in Betracht kommen.

Das Wachstum der Hefe und auch ihre Gärfähigkeit wird nun durch eine Reihe von chemischen und physikalischen Einflüssen günstig oder ungünstig beeinflußt. Ganz allgemein kann man sagen, daß für schädliche Einwirkungen jeder Art die in besonders günstigen Ernährungsbedingungen lebende Hefe weniger empfindlich ist als eine solche, die schlecht und mangelhaft ernährt wird. Die Hefe selbst enthält bereits für sie giftige Stoffe. Diese Gifte scheinen dem Stoffwechsel zu entstammen und können auch aus der trockenen Bier- oder Preßhefe durch Extraktion gewonnen werden. Die Giftigkeit solcher Extrakte steigt noch durch Dialyse derselben gegen destilliertes Wasser, wobei die giftigen Stoffe die Membran nicht passieren. In älteren Kulturen wird die Ansammlung solcher giftiger Stoffwechselprodukte, die vielleicht gerade bei der Autolyse der Zellen besonders reichlich entstehen und Albumosen sein sollen, zur Wachstumseinstellung und zur Vergiftung der weniger kräftigen und älteren Zellen führen. Auf Albumosen soll auch die Giftigkeit des Peptons und des Weizenmehles für Hefezellen zurückgehen.

Außer den in der Zelle selbst entstehenden Giften wirken noch eine Reihe von organischen und unorganischen Verbindungen giftig auf die Hefen und wirken schon in geringen Konzentrationen im Nährsubstrat anwesend wachstumshemmend und die Gärung ungünstig beeinflussend.

Hier müssen wir wieder eine strenge Scheidung zwischen Wachstum und Vermehrung als lebenswichtige Funktionen einerseits und alkoholische Gärung andererseits machen. Die verschiedenen giftig wirkenden Substanzen unterdrücken oder hemmen Wachstum und Gärung keinesfalls gleich. Im allgemeinen können kleinste Giftmengen nicht als unbedingt schädlich aufgefaßt werden Sie erhöhen meist die Teilungsgeschwindigkeit, also das Wachstum der Zellen und wirken in diesem Sinne auch fördernd auf die Gärung. Wir wollen uns hier auf diejenigen Verbindungen beschränken, die bei der Praxis der Gärführung und Hefereinzucht eine Rolle spielen, und zunächst die Wirkungsweise der **organischen Säuren** näher betrachten, wobei wir uns auf Hennebergs Darlegungen stützen.

Ameisensäure vermag in einer Konzentration von 0,3 % jugendliche, gut ernährte Kulturhefen selbst in einer Stunde nicht zu töten, während dieser Einwirkung Kahmhefen in der angegebenen Zeit erliegen. Milchsäurebakterien bleiben im allgemeinen bei dieser Konzentration am Leben, während die Essigbakterien dabei innerhalb kurzer Zeit zugrunde gehen. Um das Wachstum und die Gärung nicht aufzuhalten, muß man zu bedeutend niederen Konzentrationen greifen, da erst bei 0,08 % Ameisensäuregehalt eine kräftige Gärung bei guter Vermehrung einsetzt.

Essigsäure wirkt weitaus weniger giftig, denn selbst bei einer Menge von 3 % sind nach einstündiger Einwirkung noch zahlreiche Hefezellen am Leben und in entwicklungsfähigem Zustande. Aber auch die meisten Bakterien, wie Milchsäure- und ganz besonders Essigsäurebakterien sind ebenfalls sehr unempfindlich für Essigsäure. Nur die meisten Kahmhefen sind gegen Essigsäure empfindlicher, denn sie sind schon nach einer halben Stunde bei einer Konzentration von 3 % vernichtet.

Durch **Buttersäure** werden Kulturhefen sehr nachteilig beeinflußt, da schon Mengen von 0,5 % nach 1—1½stündiger Einwirkung bereits auffallend schädigend wirken. Die Kahmhefen sind in diesem Falle weniger empfindlich, ebenso wie zahlreiche im Gärungsbetriebe wichtige Bakterien. Zur Unterdrückung jedweder Gärung genügen weitaus kleinere Mengen, da eine solche erst bei einem Gehalt von 0,1 % kräftig auftritt. Sehr kleine Gaben von Buttersäure befördern die Gärung in Maischen, die durch Milchsäurebakterien angesäuert worden waren.

Milchsäure tötet Kulturhefen bei einer Menge von 3 % in 1½ Stunden noch nicht, sofern es sich um gut ernährte, im vollen Wachstum befindliche Zellen handelt. Das Gleiche gilt wohl auch für die Kahmhefen. Mit Ausnahme der Milchsäurebakterien sind die Spaltpilze samt und sonders sehr empfindlich gegen diese Säure. Übrigens werden durch die oben angegebene Menge auch die Milchsäurebakterien in der genannten Zeit sehr stark geschädigt, da darnach die meisten von ihnen sich als nicht mehr entwicklungsfähig erweisen. Die alkoholische Gärung wird durch verhältnismäßig ausgiebige Milchsäurezusätze noch nicht ungünstig beeinflußt, denn 0,9 % lassen noch eine vollkommen kräftige Gärung bei guter Entwicklung zu. Um bei der Hefefabrikation und Brennerei viele schwere Infektionen durch Bakterien auszuschalten, säuert man ja immer mit Milchsäure die Maische kräftig an oder sorgt für eine Entwicklung passender Milchsäurebakterien in derselben.

Oxalsäure wird von den Kulturhefen selbst in größeren Mengen für kurze Zeit vertragen, denn selbst ein 2stündiger Aufenthalt derselben in einer 2,5 %igen Lösung vernichtet sie nicht. Übrigens verhalten sich die Kahmhefen dieser Säure gegenüber ebenso, während Bakterien für sie sehr empfindlich sind. Bei länger dauernder Einwirkung selbst kleiner Oxalsäuremengen treten aber schwere Schädigungen der Hefen auf, denn nur etwa 0,2 % bewirkte schon in Kürze eine Unterdrückung der Gärung und eine Vernichtung der meisten Zellen.

Weinsäure wird von Hefen in sehr großen Dosen ertragen, denn selbst ein Aufenthalt derselben durch 24 Stunden in einer 5 %igen Lösung schädigt sie kaum und hemmt nur vorübergehend die Entwicklung, während wohl alle Bakterien bei dieser Konzentration nach dieser Zeit keine Entwicklung mehr zeigen. Gärung in Würze findet statt bei einem Gehalt derselben von 2% Weinsäure. Kahmhefen verhalten sich gegen Weinsäure wie die Kulturhefen.

Auch für **Zitronensäure** sind die Hefen wenig empfindlich, denn eine 5 %ige Lösung tötet dieselben in 24 Stunden nicht vollständig. Gutes Wachstum und kräftige Gärung findet bei etwa 1 %igem Zitronensäuregehalt statt, welche Menge genügt, bakterielle Infektionen zu unterdrücken.

Gegenüber den **anorganischen Säuren** verhalten sich die Hefen sehr verschieden. Am empfindlichsten sind die Kultur- und Kahmhefen gegen **Flußsäure**. Eine Menge von 0,04 % tötet sie schon nach 2 Stunden und schädigt sie in noch kürzerer Zeit. In einer Lösung von 0,01 % Flußsäure sind die Hefezellen dagegen nach 24 Stunden noch am Leben. Bakterien sind gegen Flußsäure viel empfindlicher mit Ausnahme der Milchsäurebakterien, die eher noch weniger angegriffen werden als Hefe. Anders liegen die Dinge beim Zusatz geringer Mengen von Flußsäure zu Nährsubstraten. In diesem Falle verträgt die Hefe mehr als die Milchsäurebakterien. Sie gärt noch bei einem Gehalt von 0,009 %, der aber noch keine bakterienfreie Gärung verbürgt, da sich dabei immer noch wilde Milchsäurebakterien einschleichen können.

Für **Salzsäure** sind die Kulturhefen weniger empfindlich als die Kahmhefen und Bakterien. Erstere überdauern ein Einbringen in eine 0,72 %ige Salzsäurelösung durch 2½ Stunden lebend. Gärung und Wachstum wird aber schon bei viel geringeren Konzentrationen gehemmt oder sehr ungünstig beeinflußt. So findet eine kräftige Gärung nur noch bei etwa 0,02 % statt, bei welchem Gehalt ein Sterben der Hefezellen nicht eintritt und die Vermehrung gut ist.

Gegenüber **Salpetersäure** verhalten sich die Kultur- und Kahmhefen verschieden. Erstere sind entschieden widerstandsfähiger, da sie sich in geringer Anzahl selbst noch nach einem Aufenthalt von 2 Stunden in einer 1 %igen Salpetersäurelösung lebend erhielten. Milchsäure- und Essigbakterien sind weitaus empfindlicher und sterben darin in wenigen Minuten ab. Gärung und Wachstum findet bei einer Menge von 0,06—0,03 % noch ausgezeichnet statt.

Eine kurze Einwirkung selbst 2 %iger **Schwefelsäure** halten die Hefen im allgemeinen gut aus. Bei einem Gehalte von 0,04 % Schwefelsäure entwickeln sich die Hefen ungestört und gären kräftig, ohne daß

dabei Infektionen der Hefe aufkommen können. Auch für schweflige Säure sind die Hefen wenig empfindlich.

Phosphorsäure gegenüber erweist sich Kahmhefe weniger empfindlich als Kulturhefen, welch letztere in einer 1 %igen Lösung nach 24 stündiger Einwirkung zum allergrößten Teil bereits getötet sind. Von ihr wird bei Anwesenheit größerer Mengen, wie 0,3—0,2 %, die Gärung schon sehr ungünstig beeinflußt und das Wachstum auf ein Minimum herabgedrückt, da in diesem Fall nur etwa 5 % der Zellen sich noch lebend finden.

In diesem verschiedenen Verhalten von Kulturhefen und wilden Essig- und Milchsäurebakterien gegenüber den verschiedenen Säuren haben wir ein Mittel in der Hand, durch zweierlei Maßnahmen verunreinigte oder infizierte Hefe wieder zu reinigen. Wir können entweder solche Hefe mit einer entsprechend konzentrierten Säurelösung waschen oder dieselbe bei einem eben noch zulässigem Säuregehalt gären lassen. Nach Henneberg eignet sich zur Hefewaschung ganz hervorragend Schwefelsäure, Salzsäure, dann gut Salpetersäure und Phosphorsäure und endlich weniger gut, aber immer noch ausreichend, Milchsäure, Oxalsäure, Weinsäure und Zitronensäure. Die weiteste Verbreitung in der Praxis wird infolge ihrer günstigen Wirkung und auch ihres niederen Preises wegen die Schwefelsäure finden. Die geeigneten Mittel zur Durchführung einer Reinigungsgärung sind wieder Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Milchsäure, Weinsäure, Zitronensäure und im minderen Grade auch Phosphorsäure. Wenn eine vollständig bakterienfreie Gärung nicht erzielt zu werden braucht, wie es in der Praxis meist genügt, kommen noch als zweckmäßig in Frage Flußsäure und Ameisensäure. Sie unterdrücken in der noch zulässigen Konzentration jede Bakterienvermehrung ohne aber die Spaltpilze zu vernichten.

Gegen die sonst als Desinfektionsmittel allgemein zur Verwendung gelangenden chemischen Verbindungen, wie Formaldehyd, Phenole usw. ist die Hefe ebenfalls sehr wenig widerstandsfähig, jedenfalls aber resistenter als die für die Gärführung in Frage kommenden Bakterien. Letztere werden schon durch weitaus geringere Mengen von Formaldehyd usw. schwer geschädigt und zum großen Teil getötet. Aus diesem Grunde eignet sich der Formaldehyd auch ganz vorzüglich zur Hefewaschung bei Verunreinigung derselben durch Bakterien.

Zur sicheren Ausschaltung von Kahmhefen, die mitunter sehr störend in den Gang der Gärung eingreifen, konnte bisher leider kein Mittel gefunden werden, da gerade diese Hefen meist sehr widerstandsfähig und genügsam in ihren Ansprüchen an das Nährsubstrat sind.

Von Bedeutung für die Praxis ist auch die Kenntnis des Verhaltens der Kulturhefe gegen Kupfer und seine Salze, Kohlensäure und Alkohol.

Kupfer gelangt jetzt wohl meist in etwas größerer Menge in die Weinmaische, da bekanntlich zur Unterdrückung des durch Peronospora viticola erzeugten, sogenannten „falschen Mehltaues“ der Rebenblätter eine Kupferkalkbrühe zur Anwendung kommt. Dieselbe stellt eine Auflösung von Kupfersulfat vor, in der das Kupfer durch Einbringung der entsprechenden Menge von Ätzkalk in basische Salze des Kupferhydroxydes übergeführt wird. Damit werden die Weinstöcke im

Verlaufe des Frühjahres und Sommers mehr oder weniger oft bespritzt. Gewiß muß dadurch eine Änderung der Hefeflora und eine Verminderung der auf den Beeren wohnenden Hefezellen herbeigeführt werden, was die spätere Gärung dann in Frage stellen kann, wenn die letzte Bespritzung kurz vor der Ernte vorgenommen wird Bei einem größeren Zeitintervall sind Störungen nicht mehr beobachtet worden. Wie Versuche ergeben haben. gelangt überdies nur ein verhältnismäßig nicht sehr großer Teil des auf den Beeren sitzenden Kupfers in den Most, da es sich um schwer lösliche Verbindungen handelt, die der Beerenhaut sehr fest ansitzen und beim Maischen und Pressen kaum zur Gänze heruntergescheuert werden. Aber selbst wenn es sich noch um beträchtlichere Mengen handeln würde, so wären im Endprodukt, dem Weine, doch nur höchstens Spuren zu finden, da einen Teil des Kupfers die Hefe selbst speichert und der andere Teil während des Gärprozesses in unlösliche Verbindungen übergeführt wird, die im Hefesatz oder Geläger zurückbleiben.

Im allgemeinen sind die Kulturhefen, wie auch die Kahmhefen, für Kupfersalze nicht sehr empfindlich und passen sich überdies auch an stärkere Konzentrationen ziemlich gut und rasch an. Auch der allgemeine Ernährungszustand und die dargebotenen Nährstoffe haben einen wesentlichen Einfluß auf die Menge von Kupferverbindungen, die noch ertragen werden. Deshalb lassen sich auch keine allgemein gültigen Grenzzahlen angeben. Jedenfalls vermögen die in der Praxis vorkommenden Kupfermengen in keinem Falle die Gärung und das Hefewachstum wesentlich ungünstig zu beeinflussen.

Von größter praktischer Bedeutung ist **das Verhalten der Hefe gegen Äthylalkohol.** Auch in dieser Hinsicht verhalten sich die einzelnen Saccharomyzetenarten sehr verschieden, abgesehen von dem Einfluß, den die Ernährung der Hefe und äußere physikalische Faktoren, wie Bewegung und Temperatur ausüben. Besonders die vorhandene Menge von Zucker ist für die Toleranz der Hefe gegenüber Alkohol von größter Bedeutung. Im allgemeinen kann man sagen, daß mit zunehmendem Zuckergehalt die Widerstandsfähigkeit der Hefe gegen Alkohol abnimmt, weshalb man in der Praxis in der Zuckerdarreichung nicht allzuhoch gehen darf.

Die Zellvermehrung wird nun sehr verschieden vom Alkohol beeinflußt. Es ist keineswegs gleichgültig, ob die hemmende Alkoholmenge in der Kultur langsam entsteht oder aber in die bisher alkoholfreie Nährflüssigkeit, in der sich die Hefen befinden, gleich in großer Menge eingetragen wird. Im ersteren Falle ertragen die Zellen viel geringere Mengen und meist wird das Wachstum schon beim Erreichen einer Menge von 2 Vol.-Proz. wesentlich abgeschwächt und die Vermehrung sehr verlangsamt, die bei 6 Vol.-Proz. gänzlich stille steht. Innerhalb kurzer Zeit, etwa 30 Stunden, ist der Moment erreicht, in dem sich die hemmende Wirkung des gebildeten Alkohols bereits deutlich ausprägt. Da setzt auch die sogenannte „wallende Gärung“ ein, während der der Preßhefefabrikant die Hefe erntet, da es ihm ja auf eine möglichst große Hefeausbeute ankommt. In der Brennerei dagegen kommt es darauf an, das Hefewachstum möglichst einzuschränken und für einen großen Vergärungsgrad zu sorgen, um die Alkoholausbeute zu vergrößern.

Will man nun das Wachstum und die Vermehrung der Hefe, die in guten, alkoholfreien Nährsubstraten wächst, durch hohe Alkoholgaben unterdrücken, so muß man zu bedeutend höheren Konzentrationen seine Zuflucht nehmen. In den meisten Fällen wird eine Menge von ungefähr 0 Vol.-Proz. notwendig sein, um das Wachstum zu hemmen. In vielen Fällen sind aber noch bedeutend größere Alkoholmengen nötig, die beispielsweise bei der Sakè-Hefe 24 % erreichen. Dieses Verhalten der in alkoholfreien Nährmedien sich kräftig und gesund entwickelnden Hefezellen gegen später zugesetzte, große Alkoholmengen zeigt deutlich, daß bei der alkoholischen Gärung die Hefe selbst in arge Mitleidenschaft gezogen wird und sich dabei niemals zu so widerstandsfähigen Vegetationen entwickelt, wie beim alkoholfreien Wachstum.

In gärenden Flüssigkeiten steht die Gärung viel später still als die Vermehrung. Besonders gewisse Weinhefen gären noch lange nach Einstellung der Vermehrung weiter.

Von wesentlichem Einfluß auf die Menge des bei der Gärung entstehenden Alkohols und dessen hemmende Wirkung auf die Gärung selbst ist die Temperatur, bei der gezüchtet wird. Unter sonst identischen Ernährungsverhältnissen steigt die hemmende Wirkung des Alkohols mit zunehmender Temperatur sehr rasch an, wie aus den Untersuchungen Müller-Thurgau's klar hervorgeht. Folgende kleine Zusammenstellung läßt diesen Einfluß der Temperatur klar erkennen:

Gärungsstillstand trat ein, sobald bei der angegebenen Temperatur folgende Alkoholmengen gebildet worden waren:

Temperatur:	Gewichtsprozente Alkohol:
36 ° C	3,8
27 ° C	7,5
18 ° C	8,8
9 ° C	9,5

Die Praxis hat darnach schon lange gearbeitet, denn die Bierbrauer pflegten im Bottich zu Beginn der Gärung bei höherer Temperatur zu arbeiten und gingen später herab, wodurch zuerst eine kräftige Zellvermehrung und später eine genügende Alkoholbildung bei lebenskräftiger Satzhefe erreicht wurde.

Die Hefen passen sich langsam auch einem größeren Alkoholgehalt an. Dieses Anpassungsvermögen ermöglicht auch eine Auslese von Hefen für die verschiedenen technischen Gärbetriebe, die eben die für den bestimmten Fall sich gut eignende Hefe noch weiter veredeln.

Gegenüber anderen Alkoholen mit Ausnahme des Methylalkohols mit dem niedersten Kohlenstoffgehalt, sind die Hefen weniger widerstandsfähig. Im allgemeinen wirken dieselben um so mehr gärungshemmend und giftig, je mehr Kohlenstoffatome sie im Molekül besitzen.

Ein zweites in reichlicher Menge bei der alkoholischen Gärung auftretendes Gärprodukt ist die **Kohlensäure.** Wenn sich dieselbe in größerer Menge im Nährboden oder in der gärenden Flüssigkeit ansammelt, so wirkt sie deutlich hemmend auf das Wachstum und die Gärung. Sie ist es aber auch, die dadurch fördernd auf die Vermehrung und Gärung einwirkt, daß sie in der gärenden Flüssigkeit eine Bewegung der Zellen herbeiführt und so für eine

gleichmäßige Verteilung der Stoffwechselprodukte und Nährstoffe sorgt. Die am Boden liegende Hefezelle wird in der Flüssigkeit durch das von ihr gebildete Kohlensäurebläschen in die Höhe gehoben. An der Oberfläche angelangt, entweicht das Bläschen und infolge der Schwere sinkt die Zelle wieder allmählich zu Boden. Dadurch wird sie immer von noch nicht oder nur wenig ausgenützter Nährlösung umspült, wodurch sich die Ernährungsverhältnisse außerordentlich günstig gestalten und die um die Zelle abgegebenen Stoffwechselprodukte sofort verteilt werden.

Nach allen bekannt gewordenen physiologischen und biologischen Eigentümlichkeiten der Hefen hat sich auch die moderne Gärführung[1]) zu richten.

Die Bierherstellung geschieht entweder in untergärigen oder in obergärigen Brauereien.

Bei der untergärigen Brauerei ist die Zellvermehrung in dem Gärbottich gering, da, abgesehen von dem geringeren Sprossungsvermögen der untergärigen Hefen, die niedrige Gärtemperatur die Vermehrungsgeschwindigkeit herabsetzt. Man muß also von Haus aus eine große Menge von Anstellhefe benützen, also reichlich Hefezellen in die Würze einbringen. Dadurch erreicht man gleich zu Anfang eine genügende Bewegung der gärenden Würze, während, wie schon gesagt, die Vermehrung gering bleibt, was wieder günstig auf die Bruchbildung wirkt. Die Bruchhefe besteht dann aus älteren Zellen, die gut aneinander haften und ein klares Gärprodukt zur Folge haben. Würde sich reichlich junge Hefe bilden, so hätten wir die sogenannte „Staubhefe", die in der ganzen Flüssigkeit verteilt bleibt. Die geringe Vermehrung setzt auch den Verbrauch von Bierextrakt in erwünschter Weise sehr herab. Weiter wählt man die tiefe Gärtemperatur bei 6—12° C im Bottich und 1—4° C im Lagerfaß deshalb, um die Vermehrung und damit den Stoffwechsel möglichst zu beschränken, wodurch die unerwünschten Stoffwechselprodukte der Hefe ebenfalls auf das geringste Maß herabgedrückt werden und der Zuckervorrat für die lange Nachgärung reicht. Es sammelt sich auch so eine größere Menge gelöster Kohlensäure an, das Bier wird klar und die Hefe setzt sich gut ab. Dadurch wird auch der Verlust beim Abziehen des Bieres aus dem Bottich kleiner. Bei der untergärigen Brauerei lüftet man nur soviel, als für das Leben der Hefe unbedingt notwendig ist. Die Einschränkung kann schon deshalb ziemlich weit gehen, da ja die Würze beim Kühlen reichlich Sauerstoff aufnimmt. Ein Zuviel der Lüftung würde eine zu rege Zellvermehrung veranlassen und überdies die Kohlensäure abführen und auch Infektionen begünstigen, abgesehen von einer Erschwerung des Absetzens der Hefe. Die natürliche Bewegung der gärenden Würze in dem Bottich ist gering und tritt spät auf, da anfangs die von den Hefezellen gebildete Kohlensäure rasch in der Flüssigkeit gelöst wird. Im allgemeinen ist die Anwendung künstlicher Bewegung nur sehr beschränkt.

Bei der **obergärigen Brauerei** arbeitet man mit weniger Anstellhefe, weil die hier in Betracht kommende Hefe ein größeres Vermehrungsvermögen besitzt und die höhere Gärtemperatur zwischen 8 und 25° C auch eine stärkere Hefevermehrung verbürgt. Die Hefe soll hier die

1) Delbrück und Hayduck, Die Gärungsführung. Berlin 1911.

Gärung ohne Schonung der Nährmaterialien und des Zuckers rasch durchführen. Es bildet sich kein Satz, sondern die ganze Hefe sammelt sich auf der Oberfläche an und wird dort abgeschöpft. Die Kohlensäuresättigung des obergärigen Bieres geschieht erst bei der Nachgärung in der Flasche. Im allgemeinen sorgt man auch für eine etwas bessere Luftzufuhr und verstärkt die Bewegung etwas mehr als bei der untergärigen Brauführung. Infektionen werden schon dadurch vermieden, daß der rasch in großer Menge gebildete Alkohol ein Aufkommen von Bakterien hintanhält.

Von wesentlich anderen Gesichtspunkten geht man bei der Gärführung in der **Brennerei** aus. Hier handelt es sich um die Gewinnung einer möglichst großen Alkoholmenge. In der Praxis überträgt man die Hefe nicht wie bei der Brauerei von Gärbottich zu Gärbottich, sondern bereitet zuerst eine Kunsthefemaische, mit der dann die Hauptmaische angestellt wird. In beiden Fällen findet die Anstellung mit bereits in Gärung begriffener „Muttermaische" statt. Die Hefemaische erhält eine große Aussaat, damit sich die Hefe nicht allzu stark vermehrt und rasch angärt, um Fremdinfektionen nach Möglichkeit auszuschalten. Unterstützt wird die Reinhaltung der Gärung noch wesentlich durch die Verwendung eines angesäuerten Hefegutes. Die Hauptmaische wird nun mit einer verhältnismäßig geringen Menge angestellt, um eine allzu stürmische Gärung zu verhindern. In der zuckerreichen Maische wird die Gärung bei hoher Temperatur durchgeführt, so daß sehr rasch eine üppige Zellvermehrung und kräftige Gärung einsetzt. Diese wird noch durch eine künstliche Bewegung mit Triebwerken beim Maischen und Kühlen gefördert, wodurch eine ausgiebige Durchlüftung erreicht wird. Nur so ist es möglich, selbst sehr zuckerreiche Maischen innerhalb sehr kurzer Zeit ohne größere Verluste ganz zu vergären. Während der Gärung selbst ist eine künstliche Bewegung nicht mehr notwendig, da sich die kräftig zirkulierende Maische fortwährend an der Oberfläche neu mit Luft beladet.

Wieder anders wird in der **Lufthefefabrikation** verfahren. Dabei sucht man möglichst große Mengen triebfähiger Hefen zu gewinnen. Man geht dabei von nicht sehr zuckerreichen Maischen aus, die im Vergleich zur vorhandenen Zuckermenge mit großen Mengen von Hefe angestellt werden. Die Menge der Anstellhefe muß aber als klein bezeichnet werden, sofern man die Hefeernte der Rechung zugrunde legt. Es kommt dabei auch nicht auf eine kräftige Alkoholbildung an, da hier der Alkohol nur die Bedeutung eines Nebenproduktes hat. Deshalb sucht man auch durch höhere Temperaturen die Gärung einzuschränken. Da erfahrungsgemäß eiweißreiche Hefen gute Triebkraft aufweisen, so muß in den Maischen eine reichlichere Menge brauchbarer Stickstoffverbindungen vorhanden sein. Zur Anregung eines besonders guten Wachstums wird die Menge während der ganzen Gärdauer durch Durchlassen eines Luftstromes durchlüftet und bewegt. Um eine möglichst bakterienfreie Gärung zu erreichen, ist es notwendig, als Anstellhefe nur Reinkulturen zu verwenden und die Gärdauer auf ein Minimum herabzudrücken.

Sowohl die Hefesporen als auch die Sproßzellen sind gegen höhere Temperaturen sehr empfindlich. Erstere sind weniger resistent als die Sporen der Bakterien. Aus diesem Grunde gelingt es schon durch einfaches pasteurisieren in vergorenen Getränken und auch in frischen Trauben- und Obstsäften die Hefevegetationen zu unterdrücken.

Literatur zur Vorlesung XXVII.

Kohl, F. G., Die Hefepilze. Leipzig 1908.
Oppenheimer, C. u. Herzog, O., Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1910.
Kossowicz, A., Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie. Berlin 1911.
Jörgensen, A., Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. Berlin 1909.
Lafar, F., Handbuch der technischen Mykologie, Bd. I u. IV. Jena, G. Fischer.
Delbrück u. Hayduck, Die Gärungsführung in Brauerei, Brennerei- und Preßhefefabrik. Berlin 1911.
Henneberg, W., Gärungsbakteriologisches Praktikum, Betriebsuntersuchungen und Pilzkunde. Berlin 1909.

ACHTUNDZWANZIGSTE VORLESUNG.

Hefereinzucht im Großen. Mykoderma und Torula.

Besonders in den Brauereien arbeitet man heute fast ausschließlich mit Reinkulturen von Kulturhefen. Auch in der Weinbereitung und in den übrigen Gärungsbetrieben spielt die Anwendung von Reinkulturen schon eine bedeutende Rolle, da dadurch sowohl eine gewisse Sicherheit des Verlaufes der Gärung gesichert ist und andererseits auch jederzeit ein einwandfreies Gärprodukt erhalten wird. Überdies ermöglicht die Gärführung durch Reinkulturen eine große und zielbewußte Einflußnahme auf den ganzen Gärverlauf und auf die Art und Weise des Gärproduktes.

Immer geht man dabei von einer einzigen Zelle jener Hefeart aus, von der man vermutet, daß gerade sie bei der betreffenden Gärung hauptsächlich beteiligt ist und für das gewünschte Endprodukt aufkommt. Nach Hansen geht man beispielsweise in der Bierbrauerei bei der Einführung einer Reinhefe von derjenigen Hefe aus, die sich im Betrieb am besten bewährt hat. Da das Oberflächenbier zu Beginn der Hauptgärung nur wenig oder überhaupt keine wilden Hefen enthält, so isoliert man von dort einige einzelne Zellen als Ausgangsmaterial. Würde man zur Isolierung das Ende der Hauptgärung wählen, so bekäme man viel eher wilde Hefen. Deshalb impft man ab, sobald die Schaumdecke im Gärbottich sich gebildet hat. Von den Einzelkulturen legt man dann Massenkulturen an, mit denen Laboratoriumsbrauversuche gemacht werden, bei denen aber selbstverständlich die gleichen anderen Bedingungen herrschen müssen und auch die gleiche Bierwürze zu verwenden ist. Erst nachdem man den Charakter der Hefe in jeder Hinsicht ermittelt hat, schreitet man zur Einführung im Großen. Mitunter zeigen die verschiedenen Kulturen, die aus einzelnen, aber gleichgearteten Zellen hervorgingen, doch recht bedeutende Abweichungen in bezug auf das Gärvermögen. Man wählt dann eben von allen angelegten Massenkulturen diejenige mit den besten Eigenschaften aus und bereitet mit ihr die Stellhefe nach einigen Vorkulturen, die zuerst in Pasteurkolben und dann in Carlsberggefäßen ausgeführt werden. Unsere Abbildung 114 zeigt einen Pasteurkolben. Man benutzt für Reinzuchtzwecke im Großen solche von 1 l Inhalt. Die Füllung und Abimpfung geschieht durch die seitliche Öffnung, welche mit einem Kautschukschlauch versehen ist, der durch ein Glasstäbchen geschlossen ist. Der zu einem

Schwanenhalsrohr ausgezogene Fortsatz trägt im absteigenden Schenkel noch eine Ausweitung, die Hansen an dem ursprünglichen Pasteurkolben anbrachte, durch die Infektionen leichter vermieden werden. Das freie Ende des Schwanenhalsrohres ist mit einem Wattebäuschchen oder Asbestpfropfen verschlossen. In Figur 115 links sehen wir das von Hansen konstruierte Carlsberggefäß (*C*), während rechts dasselbe mit der von Prior angebrachten Lüftungseinrichtung versehen abgebildet ist. Das Carlsberggefäß ist aus verzinntem Kupfer gefertigt und stellt im wesentlichen einen vergrößerten Hansen-Pasteurkolben vor. Sein Volumen beträgt ca. 10 l. Demnach kann es mit 7—8 l Würze beschickt werden. Oben ist das doppelt gebogene Metallrohr *s* durch einen Schraubenverschluß angesetzt. Sein freies Ende trägt ein Bakterienfilter, eine mit Asbest gefüllte und nur mit einem lose aufsitzenden Deckel verschlossene Büchse (*f*). Unten am Boden befindet sich ein mit einem Kautschukschlauch und Glasstab verschlossener Rohransatz (*h*) zur Abnahme der Satzhefe, oben seitlich ein ebenso verschlossener Rohransatz (*i*) für Impf- und Füllzwecke. Beim rechts abgebildeten Gefäß ist die Prior'sche Durchlüftungseinrichtung angebracht, welche ein Durchlüften der gärenden Würze gestattet, solange innen ein negativer Druck herrscht und der Quetschhahn bei *z* geschlossen ist. Die einströmende Luft wird durch das Filter *f* keimfrei gemacht.



Fig. 114.

Erst die aus dem Carlsberggefäß kommenden Massenkulturen dienen dann zur Impfung der Anstellhefe. Immer muß man darauf sehen, daß von der gewonnenen Reinkultur einige Laboratoriumskulturen in Reserve bleiben, die von Zeit zu Zeit überimpft werden müssen.

Um nun ständig reine Stellhefe in der Brauerei zur Verfügung zu haben, hat man besondere **Reinzuchtapparate** verfertigt, von denen heute schon eine größere Anzahl existiert und sich gut bewährt, obwohl man den Hansen'schen Bemühungen der Einführung der Reinkulturen mit großem Mißtrauen in der Praxis begegnete und verschiedene Einwände erhob.

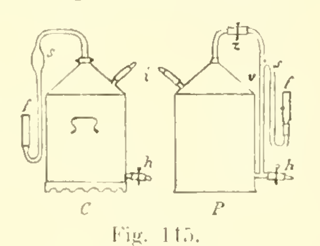


Fig. 115.

Wohl den ältesten und doch heute noch praktisch viel gebrauchten **Hefereinzuchtapparat** konstruierte Emil Christian Hansen in Verbindung mit dem Braudirektor Kühle in Alt-Carlsberg bei Kopenhagen im Jahre 1885. Dieser Hansen-Kühle'sche Reinzuchtapparat ist im wesentlichen aus einem Würzezylinder und einem etwas kleineren Gärzylinder aufgebaut. Die ganze Zusammenstellung wird wie bei allen übrigen Reinzuchtapparaten von den Prinzipien beherrscht, daß die zur Einführung gelangende Hefe eine Reinkultur im strengsten Sinne des Wortes ist, in dem Apparat wirklich steril und kontinuierlich gearbeitet werden kann und den Apparaten nach gewissen Zeiten immer genügende Quantitäten Stellhefe entnommen werden kann. Wie schon angedeutet, bürgerten

sich die Reinzuchtapparate zuerst in den untergärigen Brauereien ein, später zum Teil auch in den obergärigen und jetzt auch in fast allen anderen Gärbetrieben, wenn auch mit entsprechenden Abänderungen. In der folgenden Figur 116 sehen wir einen Schnitt durch den Hansen-Kühle'schen Hefereinzuchtapparat. Der Würzezylinder *S* ist entweder durch eine Dampfschlange, wie in der Zeichnung, oder durch einen Dampfmantel heizbar. Diese Einrichtung kann dort fehlen, wo siedenheiße, sterilisierte Würze vom Sudhause unmittelbar eingelassen wird. Dieser Würzezylinder oder Sterilisator (*S*) ist aus innen verzinntem Kupfer in einer Größe von ungefähr 300 l in Zylinderform mit aufschraubbarem Deckel gefertigt. Seine Höhe mißt etwa 120 cm, der Durchmesser halb so viel. Zum Einlassen der Würze dient der Hahn *a*. Zur Beobachtung und Kontrolle der normalen Füllung findet sich der Probierhahn *b*. Der Ablaßhahn für die Würze (*c*) in den Gärzylinder mündet etwas über dem Boden, um den Geläger zurückzuhalten. Durch den unmittelbar im Boden angebrachten Hahn *c'* kann der Würzezylinder gänzlich entleert und auch gereinigt werden. In dem Sterilisator findet auch die Lüftung der Würze während der Abkühlung statt. Dazu dient Preßluft aus der Leitung *L*, die das Wattefilter *f* passiert, bevor sie in das Innere des Sterilisators durch ein Rohr eintritt, das am Ende geschlossen ist und etwa bis zur Mitte des Gefäßes reicht. Es besitzt zahlreiche feinste Seitenlöcher, durch die die Luft in die Würze übertritt. Ein zwischen Filter und Auslaufhahn gelegter Hahn gestattet eine Regulierung oder Abstellung des Luftstromes. Die überschüssige Luft strömt durch das ebenfalls mit einem Durchlaß versehene Rohr *s* ab, dessen aufwärts gekrümmtes Ende in einem Gefäß unter Wasser mündet, um den Luftdurchtritt beobachten zu können. Um nun auch Druckluft auf die Würze wirken lassen zu können, ohne daß sie dieselbe passiert, teilt man den Luftzufluß oft gabelig hinter dem Luftfilter, wobei jeder Ast seinen Hahn tragen muß. Die Kühleinrichtung besteht im einfachsten Falle aus einem um den Zylindermantel oben herumgelegten Rohrring, in dem das kalte Wasser zugeführt wird und aus feinen Löchern auf die Mantelaußenfläche spritzt. Wenn zur Sterilisierung eine Dampfschlange oder ein Dampfheizmantel angebracht ist, dann kann diese Vorrichtung auch zum Kühlen verwendet werden, aber unter Zuhilfenahme des früher genannten Kühlers, da sonst die Kühlung zu langsam erfolgt. In der Zeichnung sehen wir noch die Dampfschlange mit dem Dampfeintritt beim Durchlaß *d* und den Dampfaustritt

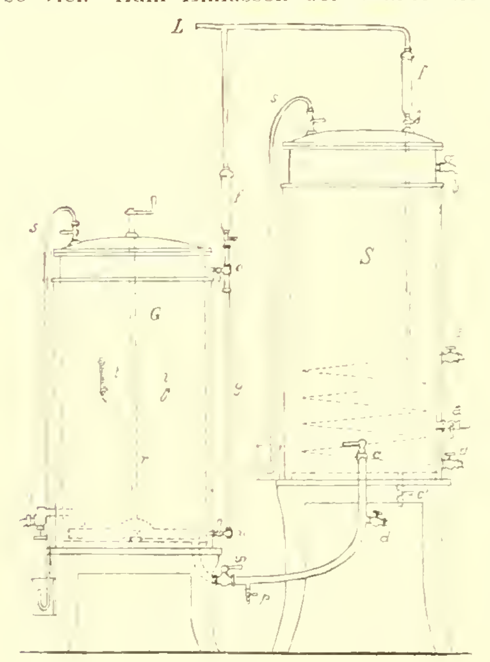


Fig. 116.

beim Hahn *c*. Die Armatur wird meist noch durch ein **Manometer** vervollständigt; dasselbe ist dann unbedingt notwendig, wenn der Sterilisator oder Würzezylinder nicht höher gestellt werden kann als der Gärzylinder. Dann muß man eben die Würze durch Luftdruck in den letzteren hinüberbefördern. Dabei benutzt man aber nur Drucke, die eine halbe Atmosphäre nicht übersteigen. Wie schon oben mitgeteilt, wird die Würze durch den Hahn *c* mit einem Schlauche durch *w* in den Gärzylinder geleitet. Der Verbindungsschlauch hat noch einen seitlichen Ansatz *d'* mit einem Hahn und einem nach abwärts gerichteten kleinen Ansatz *p*. Ersterer dient zum Anschluß an die Dampfleitung, letzterer zum Ablassen von Kondenswasser beim Ausdämpfen des Sterilisators und Gärzylinders.

Der **Gärzylinder** *g* ist ebenfalls aus verzinntem Kupfer gefertigt, besitzt den gleichen Durchmesser und nur eine etwas geringere Höhe als der Würzezylinder. Der aufgeschraubte Deckel und alle Hähne müssen absolut dicht sein, um sicher jede Infektion auszuschließen. Den Zylinder umgibt ein fast bis oben reichender **Kühlmantel**, der bei Aufstellung des Apparates in kühlen Räumen fehlen kann und in kalten Orten, wie im Gärkeller, durch eine wärmeisolierende Schicht ersetzt wird, um eine zu tiefe Abkühlung hintanzuhalten. Seitlich, etwa in der halben Höhe, trägt der Zylinder den Impfansatz *i* und ein Thermometer *t*. Das Impfröhrchen stimmt im Kaliber mit den Ansätzen der Pasteur-Hansen-Kolben überein, um ohne weiteres die Verbindungen herstellen zu können. Auch dient es zur Entnahme der Kontrollproben. Am besten zur Verhütung von Infektionen eignet sich der von **Kickelhayn** konstruierte Hahn, der nach jedesmaligem Öffnen mit Alkohol desinfiziert wird. Sonst dient ein Aluminiumstöpsel und ein Quetschhahn als Verschluß. Auch der Gärzylinder ist an die Luftleitung angeschlossen. Die durch das Filter *f* eintretende Luft kann entweder durch den Hahn *o* die Oberfläche des Inhaltes bestreichen oder durch das Glasrohr *g* und den Hahn *u* unten in den Gärzylinder eintreten und das Gärgut durchströmen. Das Rohr *g* dient bei entsprechenden Hahnstellungen auch als Anzeiger für den Stand des Inhaltes und ist mit den entsprechenden Marken versehen, die die Menge der entnommenen Flüssigkeit angeben. Der Deckel trägt noch ein **S**-förmig gebogenes, mit einem Hahn versehenes Auspuffrohr *s*, wie der Würzezylinder. Die Würze wird durch den Hahn *w* am Grunde des Zylinders eingelassen. Die Hefe bzw. das Bier entnimmt man durch den Hahn *h*, der nach innen unten eine nahe an den Boden reichende, bogenförmige Verlängerung trägt. Außen befindet sich ein gleiches, nur tiefer herunterragendes Verlängerungsstück, das mit einer Metallkapsel verschlossen ist. So wirkt der Hahn gleichsam als Heber, wodurch ein Eintreten von Luft solange vermieden ist, als das innere Verlängerungsstück unter dem Flüssigkeitsspiegel sich befindet. Ein nach unten sich öffnendes Kegelventil des Hahnes sichert ein ungehindertes Ausfließen in vollem Strahle auch beim Eindringen von größeren Partikeln des Gärgutes. Das Handrad dieses Hahnes muß bei richtiger Montage immer nach unten sehen und der Verschluß erfogt durch Hinaufdrehen desselben. Im Gärzylinder befindet sich noch ein Rührwerk *r*, dessen Schaufeln möglichst nahe am Boden sich bewegen, um die sich fest ablagernde Hefe gleichmäßig zu verteilen. Die außen oben am Deckel befindliche Antriebskurbel desselben geht durch eine dicht schließende Stopfbüchse hindurch.

Schon aus der Beschreibung der Konstruktion ist das Arbeiten mit diesem Reinzuchtapparat vollauf erklärt und gleichzeitig ersichtlich, daß tatsächlich damit absolut steril gearbeitet werden kann. Man hat es in der Hand, mit Leichtigkeit alle Apparatteile durch Dampf zu sterilisieren. Man braucht nur bei *d'* die Dampfleitung anzuschließen und die Hähne entsprechend zu öffnen und zu schließen.

Im Jahre 1888 konstruierte P. Lindner einen Reinzuchtapparat, der sich von demjenigen Hansen's und Kühle's wesentlich unterscheidet. Hier dient das Gärgefäß zugleich als Sterilisator für die Würze, zur Lüftung und Kühlung derselben, während die Hefe für die Anstellung der nächsten Gärung im Gärzylinder in einem kleinen, gesonderten Gefäß gezüchtet wird. Unsere Figur 117 zeigt den Schnitt durch den **kleinen Reinzuchtapparat Lindner's.** Er ist in erster Linie für kleine Brauereien und Laboratorien bestimmt und vermag ungefähr 1 kg Reinhefe bei einer Füllung von 50—60 l zu liefern. Er besteht aus dem kombinierten Gär- und Würzezylinder *SG* und dem getrennten mit einem Kautschukschlauch zu verbindenden Anstellgefäß *A*. Der aus Kupfer hergestellte Anstellkolben *A* faßt etwa 5—6 l. Die entsprechende Füllmenge wird jedesmal eingewogen. Seitlich und oben trägt der Anstellkolben Ansätze, von denen *i* zur Impfung und Verbindung mit dem Gärzylinder dient, während der andere Ansatz in das Filter *f'* mündet. Das Gärgefäß *SG* ist ein liegender Zylinder, der bei *a* einen unten befindlichen seitlichen Ansatz zur Einführung des Lüftungsrohres trägt und oben bei *b* einen solchen zur Verbindung mit dem Anstellkolben. Das Lüftungsrohr *v* ist durchlocht und in den Zylinder durch Kautschuk eingedichtet. An dasselbe schließt sich mit einem längeren Kautschukschlauch mit dem Quetschhahn *z* das Wattefilter *f* an, das höher als der Zylinder stehen muß, wie es die Figur zeigt. Die Lüftung erfolgt in der Weise, daß mit *f'* eine Wasserstrahlpumpe verbunden wird, die durch das Wattefilter *f* entkeimte Luft durch die Würze saugt. Der Gärzylinder hat einen Rauminhalt von ungefähr 80 l. Wie wir gesehen haben, fehlen hier Hähne vollends und sind die Infektionsmöglichkeiten auf ein Minimum herabgedrückt. Eine Gefahr bilden nur die vielen Gummischlauchverbindungen, die häufig undicht werden und dann Infektionen vermitteln.

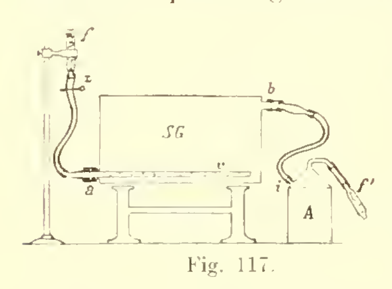


Fig. 117.

Später, im Jahre 1891, ließ Lindner einen **großen Reinzuchtapparat** nach diesem System erbauen, der im folgenden kurz beschrieben sein soll. In Fig. 118 sehen wir denselben abgebildet. Auch dabei findet das früher beschriebene, dem Carlsberg-Gefäß ähnliche Anstellgefäß Verwendung, das wieder *A* dieser Figur entspricht. Es ist hier auf einer Federwage *F* hängend abgebildet, damit man die ausfließende und zur Verimpfung gelangende Hefemenge gleich ablesen kann. Es hat aber Hähne und überdies einen unten befindlichen, seitlichen Ansatz *h'*. Der Impfansatz *i* und der letztgenannte Abfüllansatz *h'* ist mit Dreiweghähnen ausgestattet. Der Sterilisier- und Gärzylinder *SG* hat einen gewölbten Deckel und spitzkonischen Boden. Die äußere Zylindermantelfläche wird zwecks Kühlung von einem oben befindlichen Spritzkranz *h* mit kaltem Wasser besprengt.

Die Heizung bei der Sterilisation der Würze besorgt eine Dampfschlange mit dem Dampfeinlaßventil *d* und Ausströmventil *c*, die nachher auch zur Kühlung dient. Zum sterilisieren des Innern und der Rohrleitungen sind noch die Dampfventile d^1 und d^2 angebracht. Mit der Luftleitung *L* ist durch ein Filter *f* noch unter Zwischenschaltung von Hähnen der Flüssigkeitsstandanzeiger *g*, zugleich Luftzuführungsrohr, angeschlossen. Durch *o* kann die Luft oben, durch *u* unten eintreten. Mit dem Anstellgefäß kann eine Verbindung des Luftrohres durch u^1 erreicht werden. u^2 führt die Luft durch eine kurze Leitung mit den Hähnen *v*, v^1 und v^2 durch den konischen Boden von unten ins Innere des Gärzylinders. Beim Einströmen der Luft durch diese drei Rohre wird die entstehende Satzhefe kräftig aufgewirbelt und verteilt. Der Abfluß der Hefe geschieht durch den Abschlußhahn *w* des Zylinders und den Hahn *h*, während das Bier bei *x* abgelassen wird. Die überschüssigen Gärungsgase sowohl als auch die Luft treten durch das Rohr *s* aus, das am Deckel angesetzt ist und dort einen Hahn trägt. Es mündet mit der aufwärts gebogenen Öffnung unter Wasser aus. Die Würzezuleitung geschieht durch die Rohrleitung *Wz* mit dem Hahn *a*, die Dampfzuleitung durch das Rohr *D* mit dem Ventil d^2. Zur Reinigung dient die Wasserzuleitung *W* mit dem Hahn *m* am Deckel, der im Innern in eine Brause mündet, womit die innere Oberfläche gespült wird. Das abrinnende Kühlwasser vom Kühlkranz *k* fließt durch den an der unten befindlichen Rinne angebrachten Hahn *l* ab. Nach dem Lindner'schen System wurden noch eine Reihe von Reinzuchtapparaten konstruiert, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll. Außerdem existieren noch zahlreiche Reinzuchtapparate, die in der Praxis Verwendung finden und Gutes leisten. Sie dienen alle dem gleichen Zwecke der Massenreinkultur, wenn sie in der Ausführung auch Verschiedenheiten aufweisen.

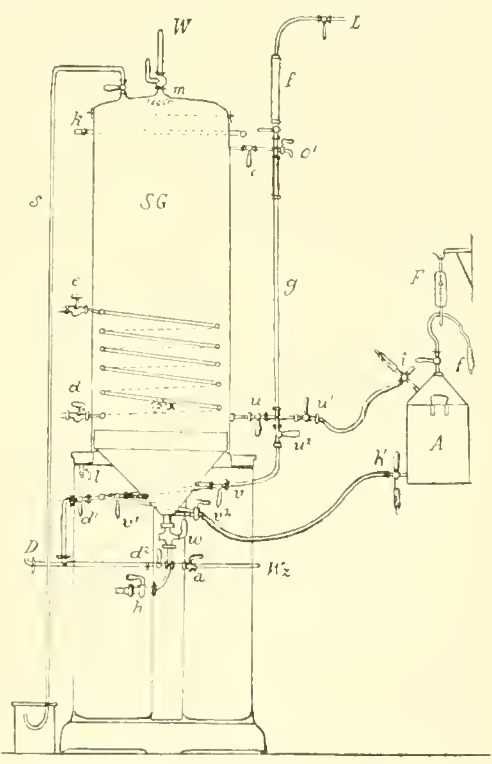


Fig. 118.

Auch in der Brennerei und Preßhefefabrikation hat sich bereits die Reinhefe eingebürgert. Entweder züchten sich die großen Betriebe ihre Hefe selbst rein oder beziehen sie in gepreßtem Zustande von bewährten Laboratorien. Hier werden natürlich an die betreffende Hefe ganz andere Anforderungen gestellt als in der Brauerei, wo dieselbe in eine Würze kommt, die für steril angesehen werden kann, was bei den Maischen aber durchaus nicht der Fall ist. Abgesehen davon ist die Gär-

temperatur in der Brennerei und auch in der Preßhefefabrik eine höhere, wodurch schwer schädigende Bakterienvegetation sich in kurzer Zeit, abgesehen von Kahmhefen, entwickeln können. Ohne Reinzucht ist man immer auf die gerade in der Mehrheit vorhande Hefe angewiesen, die zwar oft zu guten Ergebnissen führt, aber keineswegs immer. Die jeweilige Hefe steht auch in Abhängigkeit von dem Maischematerial. Ein gleichmäßiger Betrieb ist sonach in diesen Fällen ausgeschlossen. Deshalb arbeitet man jetzt fast ausschließlich in den größeren Betrieben mit Reinhefen. die gerade die hier geforderten Eigenschaften in hohem Maße besitzen. Man hat für diese Betriebe auch besondere Reinzuchtapparate hergestellt, von denen der Apparat von Jacquemin, Fernbach, Bendixen und Barbet hier erwähnt seien. Dieselben gestatten einen kontinuierlichen und infektionsfreien Betrieb bei großer Ausbeute an Anstellhefe. da hier immer mehrere Hefepropagierungsgefäße verschiedener Größe nacheinander in Tätigkeit kommen. Dieselben finden auch in der Melassenbrennerei Anwendung.

Wir haben uns bisher in erster Linie mit der Physiologie und Biologie der sogenannten Kulturhefen befaßt, mit denen alle Gärungsbetriebe arbeiten. Neben den Bakterien kommen aber auch wilde Hefen und Kahmhefen ganz besonders als gefürchtete Schädlinge in Betracht. Unter ihnen finden sich zahlreiche echte Saccharomyzeten, die sich also durch Sprossung und Sporenbildung vermehren, und Nichtsaccharomyzeten, die sich nur durch Sprossung vermehren. Letztere umfassen die **echten Mykodermen,** die keine alkoholische Gärung zu erregen vermögen, und die Torulaceen, die wir später etwas genauer kennen lernen wollen.

Durch das mikroskopische Bild allein ist eine Unterscheidung der Mykodermen von den Saccharomyzeten meist kaum mit Sicherheit möglich. Die Form der Mykodermen ist sehr variabel und abhängig von Kultureinflüssen, was auch in vollem Umfange für ihre Größe gilt. Als Mittelwerte für letztere kann man mit Will 9 μ für die Länge und 5 μ für die Breite angeben. Die Zellform ist entweder eine längliche, ovoide oder eine kreisrunde, mitunter sieht man aber auch halbmondförmige und birnenförmige Gestalten. Besonders bei reichlichem Zutritt der Luft, also des Sauerstoffes, haben die Zellen in ihrer Form einen hefeartigen Charakter, während bei Luftmangel eine myzelartige, strangförmige Gestalt vorherrscht. Die jungen Mykodermazellen besitzen meist eine sehr dünne, mäßig lichtbrechende Zellhaut, während die alten Zellen sehr dicke Wände anfweisen. Der Zellinhalt der Mykodermen scheint aus einem sehr wasserreichen Protoplasma zu bestehen, das sowohl Glykogen, als auch Fett in verschiedenen Mengen speichert. In den jungen Zellen gewahrt man mehrere Vakuolen, die später zu einer einzigen größeren verschmelzen. in der bei alten Zellen Kristalloide zur Ausbildung gelangen. Im großen nnd ganzen finden wir also gegenüber den Saccharomyzetenzellen keine sehr tiefen Unterschiede in den morphologischen Charakteren.

Die Vermehrung geschieht ausschließlich durch Sprossung, die im Detail ebenso verläuft, wie bei der Hefe. In Reinkulturen in Würze oder Traubensaft kann man unter dem Mikroskop sehr gut die Entwicklung des Sproßverbandes verfolgen, wie es auch aus der Figur 119 zu entnehmen ist, die der Abhandlung Meissner's über Mykoderma im Hand-

buche der technischen Mykologie von Lafar entnommen ist. Diesem Autor folgend verläuft die Bildung des Sproßverbandes folgendermaßen: „Sobald die Tochterzelle *2* (Fig. 119*a*) fertig gebildet ist, sproßt sie (*b*) in der Richtung der Längsachse weiter, während die Mutterzelle seitlich an der Stelle, an der sie vorher die Tochterzelle *2* sprossen ließ, eine neue Tochterzelle *3* anlegt. Nachdem diese neu angelegten Tochterzellen ausgewachsen sind, sprossen sie (*c*) in der Richtung ihrer Längsachsen weiter, während die früheren Mutterzellen wieder seitlich sprossen (*d*). Der Sproßverband sieht schließlich, um ein Bild zu gebrauchen, etwa so aus, wie eine Tanne, bei der der Mitteltrieb und die angelegten Seitentriebe in der einmal eingenommenen Längsrichtung weiterwachsen, sich aber von Jahr zu Jahr regelmäßig verzweigen.“ Zur Abbildung 119*d* sei nur noch bemerkt, daß die Zellen *2*, *5* und *7* mit einer Lufthülle umgeben sind.

Auf festen Nährsubstraten, wie Würzegelatine oder Agar, entstehen kugelige Kolonien, wie sie von Hefen sonst erzeugt werden. In bezug auf die Riesenkolonie herrscht aber eine ziemliche Mannigfaltigkeit. Wir verstehen unter Riesenkolonien nach P. Lindner Kolonien, die aus vielen Zellen einer Art, welche in einem Tröpfchen auf die Mitte der Oberfläche von einer dicken Nährgelatineschicht aufgebracht worden sind, nach längerer Zeit entstehen.

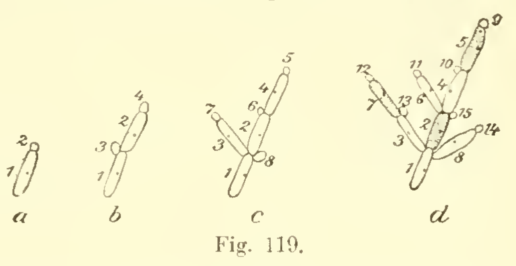


Fig. 119.

Die Mykodermen sind sehr luftliebende Organismen und siedeln sich immer an der Oberfläche von Flüssigkeiten an, die für sie einen guten Nährboden abgeben, wie Bier, Wein, Trauben- und Obstsäfte usw. Dort bilden sie reichlich luftführende Decken, die die ganze Oberfläche in kürzester Zeit überziehen. Eben der Umstand, daß sich in der Decke und an den Zellen zahllose Luftbläschen festsetzen, ermöglicht nach den Untersuchungen Meissner's das Verbleiben der Decken an der Oberfläche.

In bezug auf die Ernährung sind die Mykodermen ziemlich anspruchslos. Bei ihrem Wachstum können sie eine Reihe von organischen Säuren aufzehren und auch mehr oder minder kräftig Säure bilden. Beide Prozesse können in der Kultur nebeneinander gleichzeitig ablaufen. Hält sich die Säureabnahme und -zunahme das Gleichgewicht, dann wird keine Änderung in der absoluten Säuremenge zur Beobachtung gelangen, obwohl sich die Qualitäten der Säuren verschoben haben. Es kann auch zu einer völligen Entsäuerung der Nährflüssigkeit kommen, wenn die betreffende Mykodermenart unter den herrschenden Bedingungen überhaupt nicht Säure produziert. Die Untersuchungen Meissner's über die Tauglichkeit verschiedener organischer Säuren für die Ernährung von Mykodermen haben ergeben, daß ein und dieselbe Säure für manche Mykodermaarten ein sehr ausnutzbarer Nährstoff ist und für andere wieder ein schlechter oder überhaupt keiner. Jedenfalls spielen dabei aber noch andere Begleitumstände mit, wie die Art der Stickstoffquelle, die Züchtungstemperatur u. a. m. Apfelsäure diente beispielsweise einigen Mykodermen als guter Nährstoff und wurde

stark angegriffen, während andere Arten sie verschmähten oder nur wenig davon verzehrten. Weinsäure wird im allgemeinen sehr wenig angegriffen, während Milchsäure in den meisten Fällen ein ausgezeichneter Nährstoff ist. Zitronen- und Bernsteinsäure erweisen sich in dieser Hinsicht wieder sehr verschieden, werden also von manchen Arten stark angegriffen, von anderen wieder fast gar nicht. Das Gleiche gilt für Essigsäure, die mitunter in großen Mengen als Nährstoff dient.

Bei ihrem Wachstum erzeugen die Mykodermen meist reichlich flüchtige Säuren, die sich schon durch ihren Geruch verraten. In vielen Fällen handelt es sich dabei um Buttersäure, mitunter um Ameisen- und Essigsäure. Daneben entstehen in den Kulturen auch mehr oder minder große Mengen von fixer Säure, über deren Qualitäten wir noch wenig wissen. Die Säurebildung geht wohl meist auf die in der Lösung vorhandenen Kohlehydrate zurück. Die Mykodermen greifen auch die meisten Zucker an und bauen sie tief ab, mitunter bis zu den einfachsten Verbindungen, also Wasser und Kohlensäure. Auch der Äthylalkohol wird kräftig bis zu Wasser und Kohlensäure oxydiert, also völlig zerstört. Glyzerin wird ebenfalls angegriffen, in vielen Fällen aber beim Wachstum auch gebildet.

Die Gruppe der **Torulaceen** ist heute noch keineswegs streng zu umgrenzen. In dieselbe sollen vorläufig nicht sporenbildende Sproßpilze aufgenommen erscheinen, die in der Regel mit kugeliger oder ovaler Gestalt wachsen, nur selten ausnahmsweise längere Zellformen bilden und ein Gärvermögen besitzen oder nicht. Sie bilden die erste Untergruppe der Torulaceen. Die zweite Untergruppe der Torulaceen setzt sich aus jenen Sproßpilzarten zusammen, die zwar ebenfalls keine Sporen bilden, aber doch eine Vielgestaltigkeit der Zellen aufweisen, wie die Mykodermen, sich aber durch ihr Gärvermögen von letzteren unterscheiden. In der Natur sind die Torulaarten sehr weit verbreitet und hausen auf allen möglichen organischen Substanzen und auch in den verschiedensten Wasserläufen und stehenden Wässern, wie zahlreiche Wasseruntersuchungen es zeigen.

Die Form der Torulaarten der ersten Untergruppe ist meist kugelig oder oval und unterliegt keinen so weitgehenden Veränderungen, wie bei den Mykodermen. Besonders gleichartig sind die Zellen in jungen Kulturen, während man in alten auch länger gestreckte und wurstförmige Zellen findet. In solchen Kulturen stellen sich auch Riesenzellen ein, wie wir sie bei den Saccharomyzeten kennen gelernt haben. Viel mannigfaltiger ist die Form der Vertreter der zweiten Untergruppe, bei denen sich alle möglichen Formen vorfinden, wie Spindelzellen, keulenförmige Gestalten und myzelähnliche, äußerst langgestreckte Gebilde. Diese langen Formen entstehen meist in den Hautvegetationen an der Oberfläche von Flüssigkeiten, wie wir es bei den Saccharomyzeten bereits kennen gelernt haben.

Der Zellinhalt besteht aus einem in der Regel wenig lichtbrechenden Protoplasma, das in jugendlichen Zellen einen homogenen Charakter aufweist. In der Folge wird es vakuolisiert und später fließen bei den runden Formen die kleinen Vakuolen in eine einzige große Vakuole zusammen oder in den längeren Zellen zu wenigen größeren. Granula und Körnelungen mit stärkerem Lichtbrechungsvermögen zeigen sich erst

bei alten Zellen. Besonders auffallend und geradezu typisch für die Torulaarten der ersten Untergruppe sind die Ölkörperchen, die sich in der runden Zelle in der Regel in der Einzahl finden. Die Form des Ölkörperchens, besonders gut in Hautvegetation sichtbar, ist plattgedrückt oder mehr kugelförmig. Im Plasma wird meist Fett in einem großen Tropfen abgeschieden, und mehr oder minder reichlich entsprechend den Ernährungsbedingungen Glykogen gespeichert. In den Vakuolen findet man regelmäßig kristalloide Ablagerungen. Obwohl eingehendere Untersuchungen über einen Zellkern der Torulaceen nicht vorliegen, so ist ein solcher in denselben jedenfalls anzunehmen.

Die Vermehrung der kugeligen Torulazelle findet ausschließlich durch Sprossung statt, die an jeder Stelle der kugelförmigen Zelle eintreten kann. Es entstehen auch mehr oder minder weit ausgedehnte Sproßverbände, deren Bildung einerseits von der Torulaart, andererseits von äußeren Einflüssen von seiten des Nährsubstrates bedingt wird. Nicht unerwähnt sollen die nicht allzu selten auftretenden abnormen Zellbildungen bleiben, bei denen die Mutterzelle förmlich einen Riß bekommt, durch den dann ein breiter Fortsatz herauswächst, von dem die Tochterzelle durch eine Querwand abgeschnürt wird, so daß Erscheinungen zutage treten, die an eine Sporenkeimung erinnern. Die Ausstülpung würde demnach dem Keimschlauch oder Keimstäbchen entsprechen, von dem die erste Tochterzelle abgeschnürt wird.

Die länglichen Zellen der Vertreter der zweiten Untergruppe der Torulaceen neigen besonders zur Ausbildung ausgedehnterer Sproßverbände mit mehr wurstförmigen Zellen, die an die Zellformen der Hautbildungen bei Saccharomyzeten erinnern. Mitunter entstehen auch lange Zellreihen mit wenigen seitlichen Verzweigungen, die einem Myzel nicht unähnlich sind.

Die Torulaarten der ersten Gruppe erzeugen auf Gelatine Riesenkolonien von flacher, wenig erhabener Beschaffung ohne tiefere zahlreichere Einbuchtungen. Die Oberfläche derselben erscheint etwas radiär gestreift und weist kleinere flache oder höckerartige, verstreut liegende Erhabenheiten auf.

Die Riesenkolonien der Vertreter der zweiten Untergruppe sind viel formenreicher und zierlicher gebaut. Ihre Oberfläche ist meist sehr schön gefältelt oder trägt hübsche Schleifen und Wülste.

Wenn im allgemeinen die Torulaarten auch höhere Verbindungen, besonders Polypeptide als Stickstoffquelle bevorzugen, so vermögen sie doch auch mit einfacheren Stickstoffverbindungen, wie Asparagin, noch sehr gut ihren Stickstoffbedarf zu decken. Als Kohlenstoffquelle dienen ihnen eine Reihe von organischen Säuren, wie Zitronensäure, Weinsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure usw. und in erster Linie Kohlehydrate. Einige von letzteren werden auch zu Alkohol und Kohlensäure vergoren, einige nur zur Kohlenstoffgewinnung verarbeitet. Sie gedeihen am besten bei leicht saurer Reaktion des Nährsubstrates und unter ausreichendem Zutritt des Sauerstoffes der Luft. Damit erklärt sich wohl auch die bei ihnen durchaus ausgeprägte Hautbildung auf der Oberfläche der Nährlösungen. Ihr Sauerstoffbedürfnis scheint aber kleiner zu sein als dasjenige der Mykodermen, da sie sich unter ziemlich hohen Flüssigkeitsschichten noch relativ gut zu entwickeln vermögen. Im allgemeinen erzeugen die Torulaceen geringere Mengen

von Alkohol als die Saccharomyzeten. Wohl die meisten von ihnen vergären Glukose, Mannose, Galaktose und Fruktose, während nur wenige Maltose gering angreifen, die meisten aber sie überhaupt nicht zu vergären vermögen. Saccharose wird von der Mehrheit der Torulaarten nach vorangegangener Inversion vergoren. Laktose dient speziell den sogenannten Milchhefen als Gärmaterial, wird aber von den anderen Torulaarten nicht vergoren, was auch für Trehalose, Melibiose und Melizitose gilt. Bei der von den Torulaceen durchgeführten alkoholischen Gärung stellen sich meist ausgiebige Esterbildungen ein, die dem Gärprodukt einen eigenartigen Geschmack und Geruch verleihen, der in vielen Fällen dem Apfelaroma nahe kommt. Durch Buttersäurebildung und das Auftreten anderer flüchtiger Säuren wird das Gärprodukt oft sehr unangenehm beeinflußt.

Diese Gärbefunde lassen auf die Anwesenheit einer Reihe von Enzymen kohlehydratspaltender Natur schließen. Überdies besitzen alle Torulaceen auch ein gelatinelösendes Enzym, das in den Nährboden abgegeben wird.

In bezug auf die Temperaturen, innerhalb welcher Vermehrung und Gärwirkung der Torulazellen auftritt, herrschen bei diesen Sproßpilzen große Verschiedenheiten. Viele bevorzugen mehr niedere Temperaturen, andere wieder höhere. Das Temperaturoptimum liegt in den meisten Fällen zwischen 20 und 30° C, während das Temperaturmaximum innerhalb von 36 und 50° C liegt. Bei höheren Temperaturen sterben die Zellen nach kürzerer oder längerer Zeit ab. Die Resistenz gegen hohe Temperaturen ist abhängig von dem Nährsubstrat und seinem Gehalt an schädigenden Stoffen, wie Alkohol, Kohlensäure usw. Übrigens sind die Torulazellen gegen Alkohol ziemlich empfindlich, nachdem wohl in den meisten Fällen bei einem Gehalt von 9% ihr Wachstum gänzlich unterdrückt ist, obwohl die Zellen dabei nicht getötet werden.

Für die Gärungsbetriebe gewinnen die Torulaceen in erster Linie als Krankheitserreger für die Gärprodukte eine Bedeutung, obwohl sie eigentlich zu den selteneren Befunden zählen. Anders ist ihr Verhältnis in englischen Brauereien, wo gerade sie den für die englischen Biere charakteristischen Geruch und Geschmack bei der Nachgärung derselben erzeugen. Man bezeichnet diese Gruppe von Torulaceen als Brettanomyces. Auch im Kefir, Mazun, Kumys usw., also alkoholhaltigen Milchprodukten, sind Torulaarten als tätig befunden worden.

Literatur zur Vorlesung XXVIII.

Brand, Klöcker, Wichmann, Will, Mykologie des Brauwesens. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. V, S. 75 ff.

Hašek, Lindner, P., Kues, W., Mykologie der Brennerei und Preßhefefabrikation. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. V, S. 258.

Meißner, R., Die Mykodermen. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. IV, S. 302.

Will, H., Torulaceen, Rosahefen und schwarze Hefen. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. IV, S. 280.

Die Textfiguren 114—119 sind dem Handbuch für technische Mykologie von Lafar entnommen.

NEUNUNDZWANZIGSTE VORLESUNG.

System der Sproßpilze. Saccharomyzes-ähnliche Pilze.

Die Stellung der Sproßpilze im System hat mancherlei Verschiebungen erfahren. Nachdem man aber die Art und Weise der Vermehrung der Sproßpilze durch Sprossung und Sporenbildung unter Umwandlung der Sproßzelle in einen Askus genau kennen gelernt und auch in der Verschmelzung der Sporen vor der Keimung mit gutem Rechte einen sexuellen Akt erkannt hatte, tut man heute am besten, die Sproßpilze in die nächste Nähe der Askomyzeten oder Schlauchpilze zu stellen, wenn man schon nicht soweit gehen kann, sie ihnen einzureihen. Wir finden bei den Hefen nur wenige morphologische Charaktere, die systematischen Wert besitzen, höchstens der Größe und Form der Sporen kann solcher zuerkannt werden. Dafür müssen wir aber zu einer großen Reihe physiologischer Merkmale unsere Zuflucht nehmen. Von Bedeutung sind hier die Temperaturkardinalpunkte für die Sprossung und Sporenbildung und auch Hautbildung, die Gärkraft, und mit einiger Vorsicht auch das Vermögen, gewisse Zucker zu spalten und andere nicht. Dabei müssen wir uns aber immer gegenwärtig halten, daß eine Hefespezies sehr zahlreiche Rassen im Laufe der langen Zeit ausgebildet hat, was besonders für die Bier- und Weinhefen gilt. Besonders zahlreich sind die Rassen der Kulturhefen, die infolge Auslese von Hefezellen für bestimmte Gärungszwecke der Brauerei, Weinbereitung, Brennerei und Preßhefeherstellung im Laufe der Zeit entstanden sind.

Mit Kohl können wir die Hefepilze in drei große Abteilungen bringen, von denen die erste die Sproßhefen oder Saccharomyzeten, die zweite die Spalthefen oder Schizosaccharomyzeten und endlich die dritte die hefenähnlichen Pilze umfaßt.

I. Saccharomycetes.

Es sind einzellige Sproßpilze mit Vermehrung durch Sproßung und Bildung von Endosporen. Die Sporen können in jeder Sproßzelle, die in diesem Falle zum Askus oder zur Sporenmutterzelle wird, in der Anzahl von 1—4, in seltenen Fällen auch 12 hervorgebracht werden. Die Sporen sind ebenfalls einzellig. Saccharomyces umfaßt zwei Gruppen mit zahlreichen Gattungen und Untergruppen.

I. Gruppe.

Die hierher gehörigen Saccharomyzeten bilden in zuckerhaltigen Nährlösungen sogleich Bodensatzhefe, während eine Kahmhautbildung, wenn überhaupt, erst spät auftritt. Die Kahmhaut selbst besitzt eine mehr schleimige Beschaffenheit und lagert keine Luft ein. Eine Ausnahme bildet nur diejenige von Saccharomycopsis capsularis, die schnell ausgebildet wird. Die runden oder ovalen Sporen besitzen eine glatte, einfache oder doppelte Haut und keimen entweder unter Bildung eines Promyzels oder durch unmittelbare Sprossung. Bei den meisten Vertretern dieser Gruppe beobachtet man Schleimhautbildung.

1. Gattung: Saccharomyces Rees.

Die Vertreter derselben besitzen Sporen mit einfacher Membran, die durch Sprossung keimen. In den Hautbildungen kommen bei einzelnen Arten auch Myzele mit deutlichen Querwänden zur Ausbildung.

Ihrem Verhalten gegenüber Dextrose, Saccharose, Maltose und Laktose entsprechend ordnet man sie zweckmäßig in sechs Untergruppen ein.

Untergruppe A.

Vergärt wird Dextrose, Saccharose, und Maltose.

Unter den Vertretern dieser Untergruppe finden sich zahlreiche Kulturhefen, die für die Gärungsbetriebe von größter Bedeutung sind. Einige von ihnen sind hier näher beschrieben.

Saccharomyces cerevisiae Hansen.

In Brauwürze ruft diese Art meist Obergärung hervor. Der Bodensatz besteht aus Sproßverbänden, die aus kugeligen, ovalen oder eiförmigen Zellen zusammengesetzt sind, während sich in der Kahmhaut neben den geschilderten Sproßverbänden auch solche myzelartiger Natur finden.

Für die Sporulation liegt das Temperaturoptimum bei 20°, das Minimum bei 10° und das Maximum bei 37° C. Die Anzahl der Sporen in einem Askus beträgt 1—4, selten auch 5.

Zu Saccharomyces cerevisiae gehört eine große Anzahl von Industriehefen, wie die Carlsberg Unterhefe 1 und 2, die zahlreichen von Will isolierten Arten, weiters die dem Typus Hefe Saaz (Ober-) und Frohberg (Unterhefe) angehörigen Formen, dann die Logoshefe und die Brennereihefen Rasse II und XII des Institutes für Gärungsgewerbe in Berlin.

Saccharomyces Pastorianus Hansen.

Saccharomyces Pastorianus ist eine in Gärkellern oft anzutreffende wilde Hefe von großer Gärkraft, aber mit der sie unbrauchbar machenden Eigenschaft, dem Bier einen sehr angenehmen, bitteren Geschmack zu verleihen und die Klärung zu erschweren. Für die Weinbereitung soll sie brauchbar sein. Diese untergärige Hefe zeigt in den Bodensätzen vorherrschend mehr wurstförmige Zellen neben ovalen und birnenförmigen Knospen. Die Sporenmutterzellen sind langgestreckt und beherbergen meist 1—4 Sporen, seltener 5—10 von sehr schwankender Größe. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung liegt bei 27,5° C, das Minimum um 2° und das Maximum bei 34° C.

Saccharomyces intermedius Hansen.

Diese Hefe stammt aus der Luft einer Brauerei in Kopenhagen, aus der sie von Hansen reingezüchtet wurde. In der Satzhefe bestehen die Sproßverbände meist aus gestreckten Zellen neben wenigen rundlichen, während in der Kahmhaut die runden Formen überwiegen. In der oft etwas gestreckten Sporenmutterzelle gelangen 1—7 Sporen zur Ausbildung. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung befindet sich zwischen 26 und 28° C, das Maximum bei 34° C und endlich das Minimum zwischen 2 und 3° C.

Saccharomyces validus Hansen.

Diese Art züchtete Hansen aus durch Hefe getrübtem Bier. Sie selbst verursacht diese Trübung, weshalb sie zu den Krankheitshefen zu zählen ist. Diese Oberhefe zeigt in ihren Bodensätzen gestreckte und kugelige Zellen, während in ihrer Kahmhaut die ersteren vorherrschen. In dem rundlich-ovalen bis langgestreckten Askus finden sich 2—9 Sporen von 2—5 μ Größe. Die Kardinalpunkte in bezug auf die Temperatur bei der Sporenbildung sind für das Optimum 25° C, für das Maximum 29° und für das Minimum 4° C. Sie gärt kräftig.

Saccharomyces ellipsoideus Hansen.

Diese von der Haut reifer Weinbeeren durch Hansen reingezüchtete wilde untergärige Hefe spielt bei der Weinbereitung eine wichtige Rolle und zu ihr gehören die zahlreichen Kulturweinhefen und Obstweinhefen, die unter dem Namen Johannisberg II usw. gehen. Der in Bierwürze entstehende Bodensatz besteht zumeist aus kugeligen bis elliptischen Zellen. Die kleinen und ellipsoidischen Sporenmutterzellen enthalten 1 bis 4 Sporen. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung liegt bei 25° C, während sich das Minimum bei 5—7, das Maximum um 31° befindet.

Saccharomyces turbidans Hansen.

Dieser wilde untergärige Saccharomyces bringt im Bier Trübungen hervor, ist also eine Krankheitshefe. Im Bodensatz desselben findet man nur wenige gestreckte Zellen. Die Mehrzahl ist elliptisch bis eiförmig. Die Kardinalpunkte für die Sporenbildung sind: Optimum 29° C, Minimum 4—5° C und Maximum 34—35° C.

Saccharomyces Vordermannii Went und Pr. Geerligs.

Die sehr kräftig, bis zu 10% Alkohol bildende Hefe findet bei der Arrakherstellung in Java Verwendung und wurde aus dem Ragi gezüchtet. Der Ragi besteht aus allerlei Pflanzenteilen, Zuckerrohr und Reis und besitzt Kugel- oder Kuchenform. Neben dem genannten Saccharomyzes enthält er noch eine reiche Vegetation von Bakterien und Schimmelpilzen, welch letztere die vorhandene Stärke verzuckern. Die vorhandenen und gebildeten Zucker vergärt die genannte Hefe und gibt dabei ein sehr gutes Arrakprodukt. Der Saccharomyces Vordermannii besitzt sehr vielgestaltete Zellformen und erzeugt in seinem Askus vier Sporen. Kahmhäute bildet er überhaupt nicht.

Saccharomyces Saké Yabe.

Diese Hefe besorgt die Vergärung des durch die Tätigkeit des Aspergillus oryzae im Saké, dem japanischen Nationalgetränk, aus der Reis-

stärke entstandenen Zuckers. Die Herstellung des Sakés, des Reisbieres der Japaner, das in sehr großen Mengen verbraucht wird, ist ziemlich langwierig. Zuerst, meist im November, wird der Koji bereitet, indem man gedämpften Reis mit den gelbgrünen Konidien des Aspergillus oryzae beimpft und die Sporen desselben bei 20—25° C keimen läßt. Dann nach einigen Tagen, innerhalb welcher die Keimung vollzogen ist, mischt man den nun fertigen Koji mit neuem gedämpften Reis und soviel Wasser, daß ein dicker Brei entsteht, der Moto genannt wird. Die Stärkeverzuckerung erfolgt bei niedriger Temperatur, wobei sich die Masse stark verflüssigt. Schon nach wenigen Tagen setzt eine kräftige Gärung ein, die man zuerst bei etwa 20° hält und dann bei 30—35° weiterführt. Nach etwa 14 Tagen ist die Motobereitung beendet. Jedenfalls ist reichlich Zucker neben Alkohol und Milchsäure vorhanden. Dieser Moto wird nun neuerlich mit gedämpftem Reis und Wasser zu einem Brei angemacht, der in Gärbottichen stehen bleibt und weiter gärt. Nach einer 14tägigen Gärdauer wird das Gärgut gepreßt, die erhaltene Füssigkeit geklärt, um dann konsumiert zu werden.

Die Zellen des Saccharomyces Saké sind groß und kugelig. Die Kardinalpunkte für die Sporenbildung sind: Optimum 30—32°, Maximum 40—42°, Minimum 3—4° C.

Saccharomyces cartilaginosus Lindner.

Diese Hefe stammt aus Kefirkörnern und bildet in Würze eine Bodensatzhefe von flockiger Beschaffenheit. Eine eigentliche Kahmhaut kommt nicht zur Ausbildung; es entstehen auf der Nährflüssigkeit nur kleine inselartige Zusammenlagerungen, die eine mehr knorpelige Beschaffenheit aufweisen.

Saccharomyces pyriformis Marsh. Ward.

Derselbe ist mit dem schon genannten Bacterium vermiforme bei der Gärung des Gingerbeer tätig. Das Ingwerbier wird in den Haushaltungen Englands im Sommer durch vergären einer mit Ingwer versetzten Zuckerlösung bereitet. Es stellt ein stark schäumendes, säuerlich schmeckendes und erfrischendes Getränk dar. Die Hefe neigt zur Kahmhautbildung und besitzt daher wurstförmige bis birnenförmige Gestalt.

Zur Untergruppe A gehören noch einige minder wichtige Saccharomyzeten, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll.

Untergruppe B.

Hierher gehören diejenigen Saccharomyzeten, welche zwar Saccharose und Dextrose vergären, nicht aber Maltose und Laktose. Die wenigen Vertreter dieser Gruppe sind von keiner größeren Bedeutung, weshalb von ihrer näheren Besprechung abgesehen werden kann.

Untergruppe C.

Die wenigen in dieser Untergruppe vereinten Hefen vergären Dextrose und Maltose, während Saccharose und Milchzucker nicht angegriffen wird. Sie besitzen für die Praxis auch kaum eine Bedeutung.

Untergruppe D.

Dieselbe zählt zurzeit nur einen Vertreter, der dadurch ausgezeichnet ist, daß er nur Dextrose vergärt und nicht Maltose, Saccharose und Laktose.

Es ist der

Saccharomyces mali Duclaux,

welcher aus Zider isoliert wurde. Die sehr großen, 6—12 μ langen und 4—7 μ breiten Zellen siedeln sich in einem Bodensatz in der Nährfüssigkeit an. Sie sind sowohl gegen Säuren als auch gegen etwas höhere Temperaturen sehr wenig widerstandsfähig.

Untergruppe E.

Dieselbe umfaßt die speziell Milchzucker vergärenden Saccharomyzeten.

Saccharomyces fragilis Jörgensen.

Es ist eine Kefirhefe, die neben Torula- und Bakterienarten aus diesem alkoholhaltigen Milchgetränk gezüchtet wurde. Sie besitzt kleine Zellen, die leicht die etwas länglichen Sporen ausbilden.

Untergruppe F.

Die zahlreichen, in diese Untergruppe eingereihten Hefen erzeugen keinen Alkohol. Übrigens ist die Stellung aller hier untergebrachten Saccharomyzeten mit Ausnahme derjenigen von Saccharomyces Hansenii noch keineswegs sichergestellt. Ihre Herkunft ist ebenfalls außerordentlich verschieden. So wurde der Saccharomyces subcutaneus tumefaciens aus einer bösartigen Geschwulst gezüchtet. Wir finden hier auch für den Gärbetrieb schädliche Krankheitshefen, wie Saccharomyces pinophtorus melodus, und Saccharomyces pinophthorus enervans, weiter den Saccharomyces theobromae, der bei der Fermentation der Kakaobohnen beteiligt ist und andere mehr.

2. Gattung: Hansenia Lindner.

Die Verteter dieser Gattung besitzen im allgemeinen die Charaktere der Gattung Saccharomyces, nur ist ihre Zellform ausgesprochen zitronenförmig.

Hansenia apiculata Lindner.

Diese in der Natur sehr weit verbreitete Hefe ist über den Sommer und besonders zur Zeit der Reife der verschiedenen Beerenfrüchte auf diesen seßhaft und überwintert in der Erde, wo man sie, wie schon beim natürlichen Vorkommen der Hefen erwähnt, bis zu 30 cm Tiefe nachweisen kann. Sie stellt sich häufig bei den spontanen Weingärungen und Biergärungen ein, tritt aber bei der Nachgärung in den Hintergrund. Die Apikulatushefe hat zitronenförmige Zellen, sofern sie gut ernährt wird, während sich bei ungünstiger Ernährung auch gestreckte und ovale Zellformen einstellen.

Bei der Weingärung wird sie mitunter insofern sehr unangenehm, als sie bei noch niederem Alkoholgehalt des Mostes der Tätigkeit der anderen Kulturhefen hinderlich ist. Außerdem verzehrt sie gierig die Säuren und erzeugt flüchtige Säuren und Ester, die dem Weine einen eigenartigen, unangenehmen Geschmack verleihen und sein Bukett schädigen.

Ihr nahe verwandt ist die parasitische Apikulatushefe, Hansenia apiculata parasitica, die Paul Linder in Schildläusen von der Myrte, dem Lorbeer, Efeu usw. nachwies. Eine weitere parasitische Hefe, die von Hartig in den massenhaft spontan eingehenden Nonnenraupen gefunden wurde, dürfte mit der vorgenannten wohl identisch sein. Sie fand sich in großer Menge in der Blutbahn aller erkrankten Nonnenraupen dieses Waldgebietes.

3. Gattung: Torulaspora Lindner.

Die Torula ähnlichen, kugeligen Zellen enthalten in der Zellmitte einen großen Fetttropfen. Vorläufig kennt man für diesen Typus nur einen Vertreter von untergeordneter Bedeutung.

4. Gattung: Zygosaccharomyces Barker.

Die Vertreter dieser Gattung unterscheiden sich von denjenigen der Gattung Saccharomyces dadurch, daß vor der Sporenbildung eine Verschmelzung zweier Zellen, also eine Kopulation, eintritt.

Zygosaccharomyces Priorianus Klöcker.

Diese Hefe wurde aus dem Körper von Honigbienen gezüchtet. In Würzekulturen sind die jungen Zellen meist rund oder oval, seltener verlängert. Die sich bildende Bodensatzhefe ist eine gut zusammenhängende Masse. Die runden bis ovalen Sporen werden bei 16—18° am schnellsten erzeugt. Das Temperaturminimum für die Sporulation liegt zwischen 3 und 9°, das Maximum zwischen 27 und 28°. Die Hefe vergärt Dextrose und Maltose, während Rohrzucker und Milchzucker nicht vergoren wird.

Zygosaccharomyces Barker

ist der vorgenannten Art in jeder Hinsicht sehr ähnlich, nur sind die Kardinalpunkte für die Sporenbildung etwas nach oben verschoben, denn das Optimum liegt bei 25—27°, das Maximum bei 37—38° und das Minimum um 13° C.

5. Gattung: Saccharomycodes Hansen.

Die mit einer Membran versehenen Sporen dieser Gattung keimen mit einem Promyzel, von dem die Weitervermehrung durch Sprossung mit unvollkommener Abschnürung geschieht. Die Sprossung erfolgt in den Anfangsstadien wie bei den anderen Saccharomyzesarten, später ist aber die Abschnürung der Sprosse nicht vollständig, sondern wird durch die Bildung einer Querwand ergänzt. Man beobachtet auch Myzelbildungen mit ausgesprochenen Querwänden.

Saccharomycodes Ludwigii Hansen.

Er wurde im Schleimfluß von Bäumen, besonders Eichen, entdeckt und bildet kräftig Alkohol, dessen Menge bis zu 10 Vol.-Proz. erreicht. Bei der Zucht in Würze oder anderen Nährflüssigkeiten entstehen am Boden verschieden konsistente Zellanhäufungen, mitunter auch schimmelartige Flocken. Bei niederer Temperatur wird erst spät eine Kahmhaut ausgebildet, in der sich zahlreich langgestreckte, wurstförmige Zellen zeigen. Die typische Zellform ist aber zitronenartig. Die Zellen sind

groß und enthalten meist eine oder mehrere Vakuolen. Diese Art bildet sehr leicht, sowohl unter günstigen als auch ungünstigen Ernährungsbedingungen reichlich Sporen. Die Sporenmutterzellen sind länglich, oval oder gestreckt und beherbergen in der Regel zwei bis vier runde Sporen. Die Sporulation erfolgt am raschesten bei 30° C, das Maximum dafür liegt bei 34° und das Minimum bei 3°.

6. Gattung: Saccharomycopsis Schiönning.

Die Sporen der Vertreter dieser Gattung sind doppelt behäutet. Sonst besteht kein wesentlicher Unterschied gegenüber den anderen Saccharomyzesarten.

Saccharomycopsis capsularis Schiönning.

Diese aus einer Wiese der Nordalpen der Schweiz stammende Hefe hat eiförmige bis wurstförmige Zellen und bildet Myzelien mit Querwänden aus. Die mehr kugeligen oder auch länglichen Sporenmutterzellen enthalten meist je vier große Sporen, deren Durchmesser 3,5—8 μ beträgt. Bei der Keimung reißt das Exospor meist mit ungleichen Lappen auf, worauf die eigentliche Keimung erfolgt, wie wir es bereits früher kennen gelernt haben. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung liegt bei 25—28°, das Minimum bei 5—8° und endlich das Maximum bei 34,5—35° C.

II. Gruppe.

Die Arten dieser Gruppe sind durch das Vermögen ausgezeichnet, sehr schnell infolge Lufteinlagerung matt aussehende Kahmhäute zu erzeugen, wenn sie in zuckerhaltigen Nährlösungen gezüchtet werden. Sie erzeugen verschieden geformte Sporen, die nur einfach behäutet sind und vielfach an ihrer Oberfläche vorspringende Leisten tragen. Sie keimen durch einfache Sprossung. Die meisten Vertreter dieser Gruppe vergären Zucker zu Alkohol, während einigen von ihnen diese Fähigkeit fehlt. Häufig beobachtet man eine ausgiebige Esterbildung.

7. Gattung: Pichia Hansen.

Die Arten dieser Gattung erregen keine alkoholische Gärung. Sie bilden Myzele. Ihre Sporen sind sehr verschieden gestaltet. Man findet runde, halbkugelige und sogar eckige.

Als ein Beispiel für die zahlreichen Arten dieser Gattung sei aufgeführt

Pichia membranaefaciens Hansen.

Diese Hefe konnte schon von verschiedenen Standorten isoliert werden. Die Sporen werden leicht erzeugt, denn sie bilden sich auch in großer Menge in den rasch entstehenden, sehr lufthältigen Kahmhäuten. Die Form derselben ist variabel, kugelig bis halbkugelig. Das Temperaturoptimum für die Sporulation befindet sich bei 30,5—31°, das Maximum bei 33,5—35° und das Minimum bei 2,5—7,5° C.

8. Gattung: Willia Hansen.

Die meisten Arten dieser Gattung erweisen sich als sehr wirksame Esterbildner. Einigen von ihnen fehlt das Vermögen, die alkoholische

Gärung hervorzurufen. Ihre Sporen besitzen entweder Hut- oder Zitronenform und tragen eine hervorragende Leiste.

Willia anomala Hansen.

Diese Art wurde zuerst von E. Chr. Hansen aus einer unreinen bayerischen Brauereihefe gezüchtet und später auch aus englischem und belgischem Biere isoliert. Sie besitzt kleine Zellen von vorwiegend rundlicher Gestalt. In Bierwürze verimpft bildet sie rasch eine Kahmhaut und trübt bei der Gärung die ganze Flüssigkeit. In dem Gärprodukt erzeugt sie einen kräftigen fruchtesterartigen Geruch. Willia anomala ist an ihren Sporen sehr leicht kenntlich, die eine hutförmige Gestalt besitzen und eine ringsum laufende, vorspringende Leiste aufweisen. Im allgemeinen Teil über die Sporenform der Hefe findet sich auf S. 342 die Abbildung. Meist werden in jedem Askus zwei bis vier Sporen ausgebildet. Als Kardinalpunkte für die Sporenbildung können für das Optimum 30°, das Minimum 2,5—7,5° und für das Maximum 32—34° C gelten.

Willia Saturnus Klöcker.

Auch diese aus Erde des Himalaja stammende Hefe besitzt ganz eigenartig geformte und sehr leicht kenntliche Sporen. Die 4—6 μ langen Sproßzellen derselben sind meist kugelig oder elliptisch, seltener stärker verlängert. Auf Nährflüssigkeiten entsteht in kurzer Zeit eine faltige, weiße Kahmhaut. Die ziemlich großen Sporen besitzen eine zitronenförmige oder spindelförmige Gestalt und zeigen eine Leiste, die von einer Spitze zur anderen verläuft, wie es auch aus Abbildung 110 auf S. 342 zu entnehmen ist. Im Mittelpunkte jeder Spore sitzt ein stark lichtbrechendes Kügelchen. Die Kardinalpunkte für die Sporulation sind: Optimum 25°, Maximum 28—31,5° und Minimum 4—7° C. Bei der Gärung durch die Hefe, die sich auf Dextrose, Fruktose, Raffinose und Saccharose erstreckt, entsteht Essigester.

In diese Gattung werden noch einige Hefen eingereiht, von deren Besprechung abgesehen werden kann, da die beiden vorgenannten dieselbe genügend charakterisieren.

II. Schizosaccharomycetes (Spalthefen).

Zum Unterschied von den Sproßhefen, die wir bisher abgehandelt haben, findet bei den Schizosaccharomyzeten oder Spalthefen die Vermehrung nicht durch Sprossung, sondern durch Ausbildung einer Querwand, wie bei den Bakterien, statt, was ja auch schon ihr Name aussagen soll. Auch bei ihnen kann jede beliebige vegetative Zelle zur Sporenmutterzelle, also zum Askus werden. In vielen Fällen tritt aber vor der Sporenbildung eine Verschmelzung zweier Zellen ein, die meist einen Fortsatz gegeneinander treiben. Beide Fortsätze berühren sich, und an der Berührungsstelle werden die Zellwände eingeschmolzen. Vielfach kommt es aber zu keiner Fortsatzbildung, sondern zwei Zellen legen sich einfach aneinander, worauf an den Berührungsflächen eine Resorption der Membranen erfolgt. Durch diese Kopulationen entstehen dann die für die Schizosaccharomyzeten so typischen Hantelformen und Bisquittformen der Zellen.

1. Gattung: Schizosaccharomyces Lindner.

Die Spalthefen erregen durchwegs kräftig alkoholische Gärung und sollen kein Glykogen speichern. Sie stammen alle aus wärmeren Gegenden des Südens. Die Sporen zeigen bei der Behandlung mit Jodjodkaliumlösung eine Blaufärbung.

Schizosaccharomyces Pombe Lindner.

Diese aus dem Pombe, einem Hirsebier der Neger, isolierte Spalthefe besitzt längliche, an den Enden abgerundete Zellen, die längere Wuchsverbände ausbilden, wenn die durch Querteilung oder Spaltung entstandenen Tochterzellen aneinander haften bleiben. In älteren Kulturen herrschen die runden Zellformen vor.

Sie bildet bei höheren Temperaturen, als Oberhefe wachsend, reichlich Alkohol unter Vergärung von Dextrose, Rohrzucker, Maltose und Dextrin, während d-Mannose nicht vergoren wird. Wegen ihrer kräftigen Alkoholbildung, die in Maischen aus Rohrzucker, Kartoffelstärke und Malz 15,5 Vol.-Proz. erreicht, und wegen ihres guten Wachstumes bei höheren Temperaturen arbeitet man mit gutem Erfolg mit ihr in südamerikanischen Brennereien.

Schizosaccharomyces octosporus Beijerinck.

Diese Art wurde auf der Oberfläche von getrockneten Weinbeeren aus der Türkei, aus Griechenland und Kleinasien gefunden. Sie scheint übrigens aus drei Rassen zu bestehen, von denen eine asparogen, die andere sporogen ist, während die dritte aus Zellen besteht, die teils Sporen erzeugen, teils nicht. Die Zellen dieser Hefe sind sehr groß, rundlich und bei der Teilung etwas verlängert. Daneben beobachtet man auch sehr lange Zellformen, die entfernt an ein Myzel erinnern. In jeder Sporenmutterzelle kommen acht Sporen zur Ausbildung, wie schon der Name sagt. Unter günstigen Umständen können die Sporen schon im Askus keimen.

Saccharomyces octosporus verlangt zu seiner Vermehrung hochzusammengesetzte Stickstoffverbindungen als Stickstoffquellen, wie sie natürlich in den Früchten (Rosinen) und auch im Malz vorliegen. Ammoniumsalze, Asparagin und Pepton erwies sich in dieser Hinsicht als nicht oder kaum merklich brauchbar. Diese sehr luftliebende Spalthefe, welche ein geringeres Gärvermögen besitzt als die vorgenannte, vergärt neben Dextrose, Fruktose, Maltose, Raffinose und α-Methylglukosid, was auch die anderen Spalthefen tun, noch Galaktose, während Rohrzucker und Inulin von ihr nicht vergoren werden kann.

Schizosaccharomyces mellacei Jörgensen.

Diese Spalthefe steht dem erstgenannten Schizosaccharomyces Pombe sehr nahe. Man züchtete sie aus Jamaika-Zuckerrohrmelasse. Sie weist verschiedene Zellformen auf und vermag Dextrose, Maltose, Fruktose, Rohrzucker, Dextrin, Inulin und d-Mannose zu vergären, bildet aber nicht sehr kräftig Alkohol.

III. Saccharomyzetenähnliche Pilze.

In dieser Pilzgruppe kann man hefeähnliche und den Saccharomyzeten nahestehende Gattungen vereinigen, wie Mycoderma, Torula,

Monilia, Chalara, Oidium und Dematium. Höchstwahrscheinlich stammen einige derselben unmittelbar von den Saccharomyzeten ab.

1. Gattung: Mycoderma.

Die Arten dieser Gattung schließen sich in vielen Beziehungen den echten Saccharomyzeten an, sowohl was ihre Form als auch ihre innere Organisation anlangt, ganz abgesehen von der vollkommen gleich verlaufenden Sprossung. Die sehr luftliebenden Mykodermen erzeugen sehr rasch an der Oberfläche der Nährflüssigkeiten ausgebreitete, lufthältige Kahmhäute, weshalb man sie auch Kahmhefen oder Kahmhautpilze nennt. Die Form der Zellen ist vornehmlich gestreckt, wurstförmig. Alle verbrennen kräftig Alkohol und entalkoholisieren so die Gärprodukte, auf denen sie sich ansiedeln. Außerdem verzehren sie meist in hohem Maße organische Säuren. Sie selbst besitzen nicht die Fähigkeit, Zucker in Alkohol zu vergären. Man trifft sie regelmäßig, wenn man Wein oder Bier in leicht bedecktem Zustande einige Tage bei nicht zu niedriger Temperatur stehen läßt. Alsbald erscheint die von ihnen erzeugte Kahmhaut. Die bekanntesten Mykodermen sind das Mycoderma cerevisiae Desm. und das Mycoderma vini Desm. Beide scheinen übrigens Sammelbegriffe für mehrere vorliegende Arten zu sein.

Mycoderma cerevisiae Desm.

Dieser Bierschädling, der es entweder trübt oder ihm einen unangenehmen Geruch und Geschmack verleiht, erzeugt sowohl auf Würze als auch auf Bier runzelige, matt aussehende und graue Häute. Nahe steht dem Mycoderma cerevisiae der von Lafar gefundene Kahmpilz, der in Bier Essigsäure erzeugt.

Mycoderma vini Desm.

Es umfaßt noch mehrere Formen, die teilweise schon isoliert und für sich untersucht sind. Alle Vertreter dieser Art bilden auf Wein kräftige Decken und sind ausgesprochene, sehr gefürchtete Weinschädlinge.

2. Gattung: Torula.

Auch die Torulaarten besitzen in bezug auf ihre Form und Vermehrung durch Sprossung und auch durch ihre physiologischen Eigenschaften die größte Ähnlichkeit mit Saccharomyzeten. Ihnen fehlt nur die Fähigkeit, endogene Sporen zu bilden; außerdem erzeugen sie keine myzelartigen Vegetationen. Man findet unter ihnen auch kräftige Alkoholbildner. Im Laufe der Zeit wurden zahlreiche Torulaarten bekannt, auf die hier einzugehen zu weit führen würde.

3. Gattung: Monilia.

Die Monilien stehen zwischen den Blastomyzeten oder Sproßpilzen und den Schimmelpilzen. Dementsprechend bilden sich auch auf Flüssigkeiten Decken, die noch nicht ausgesprochenen Myzelcharakter haben, obwohl das Auftreten gefächerter und verzweigter Hyphen durchaus nicht so selten ist. Sie haben eher das Gefüge von lockeren Kahmhäuten, die leicht zerfallen.

Die gewöhnliche Wuchsform der Monilien ist das Sproßmyzel mit einem außerordentlichen Formenreichtum. Wir finden in einem

alten Sproßmyzel neben kugeligen mykodermaartige Zellen und lange, wurstförmige, schlauchförmige Formen, die alle durchzogen werden von oidiumartigen Zellen und verzweigten Hyphen. Dabei ist es einerlei, ob man in flüssigen Nährsubstraten züchtet oder auf festen.

Ausgesprochene Fruktifikationsorgane fehlen den Monilien; eine Fruktifikation ist überhaupt nicht vorhanden, auch wenn z. B. die Monilia sitophila Lufthyphen treibt, die Konidienträger ähneln und Hefenkonidien aussprossen lassen, wie es in der folgenden Fig. 121 auf S. 396 zu sehen ist. Diese Art von Konidien unterscheidet sich aber in nichts von den gewöhnlichen vegetativen Zellen, außer in der Form. Die Spitzen, die man häufig an Schlauchzellen von Monilia variabilis und anderen beobachten kann, wie sie auch in der Fig. 120 *g* zu sehen sind, könnte man bei einigem guten Willen als Sterigmen auffassen, auf denen die Hefenkonidien gesessen haben.

Der Zellinhalt der sprossenden Monilien ist wenig lichtbrechend, homogen und von großen Vakuolen durchsetzt, die ein elliptisches und lebhaft tanzendes Körnchen enthalten.

Als Beispiel seien hier von den vielen bekannt gewordenen Arten zwei angeführt und näher behandelt.

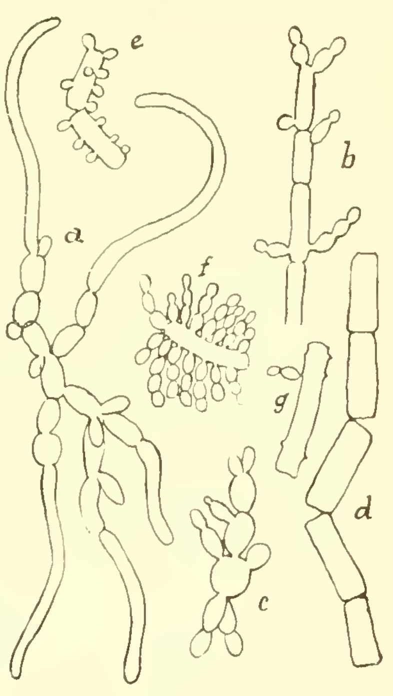


Fig. 120.

Monilia variabilis Lindner.

Dieselbe stellt vielleicht die formenreichsten Vertreter dieser Gattung vor. Sie wurde von Lindner auf einem Berliner Weißbrot gefunden, wo sie grauweiße, mehlartige Flecke erzeugte, die bei mikroskopischer Untersuchung sich als aus torulaähnlichen Zellen bestehend erwiesen, zwischen welchen lange zylindrische, leer erscheinende Zellen lagen, die an ihrer Oberfläche Höckerchen trugen und an denen noch einzelne torulaähnliche Konidien saßen. In der obigen Abbildung 120 nach Lindner sehen wir die Pleomorphie dieses Organismus. Ein jugendliches Sproßmyzel mit schlauchförmig verlängerten Endzellen zeigt uns *a* dieser Figur, während *b* einem älteren Faden mit Hefenkonidien entspricht. *c* hingegen führt uns das überaus hefeähnliche Sproßmyzel vor Augen, während *d* den Zerfall einer älteren Hyphe in oidienartige Zellen demonstriert. An solchen Oidien entwickeln sich die torulaähnlichen Konidien, wie es in *e* wiedergegeben und auch aus *f* deutlich ersichtlich ist. Von solchen Oidienzellen, die oberflächlich in Flüssigkeiten sich befinden, gliedern sich auch torulaähnliche Konidien in die Luft ab, die man auch Luftzellen nennt. Überhaupt neigt Monilia variabilis beim Wachstum unter reichlichem Zutritt von Luft, also an der Oberfläche von Flüssigkeiten, zur Bildung von kugeligen, kleinen Zellen.

während Sauerstoffmangel die Hefenform hervorruft. *g* zeigt uns endlich eine Oidie, die zahlreiche Höcker und Spitzen am Umfang aufweist, wo die torulaähnlichen Konidien ausgebildet worden sind, die aber bis auf eines bereits abgefallen sind. Diese Monilia ist ein Gärungspilz und erzeugt in Bierwürze nach 5 Monaten 1,4 Gew.-Proz. Alkohol. Von ihr werden vergoren: Glukose, Fruktose, Galaktose, Trehalose, Saccharose, Maltose, Laktose, Raffinose, Dextrin, α- und β-Methylglukosid.

Monilia sitophila Saccardo.

Sie benutzen die Eingeborenen West-Javas zur Bereitung des Ontjom, einer beliebten Delikatesse aus den Samen der Erdnuß. Das Gericht stellt orangegelbe, kleine Kuchen vor, die aus den durch und durch verpilzten Samen bestehen, auf dessen Oberfläche sich reichlich die Konidien finden. Diese Monilia durchzieht feste Nährsubstrate reichlich mit ihren gefächerten Hyphen und bringt dabei auch eine chemische Veränderung des Samens und eine Auflockerung desselben hervor. Sobald die reichverzweigten Hyphen die Oberfläche erreichen, erheben sich von ihnen kurze Hyphen in die Luft, die in großer Menge Konidien abschnüren. In Fig. 121 sehen wir eine solche Lufthyphe von Monilia sitophila nach Went mit sprossenden Hefenkonidien. Diese Konidien entstehen in der Weise, daß die Lufthyphen Querwände bilden. Die so entstehenden Abschnitte lösen sich nach Abrundung ab. Diese jungen eiförmigen, großen Konidien vermehren sich weiter durch alsbald einsetzende Sprossungen.

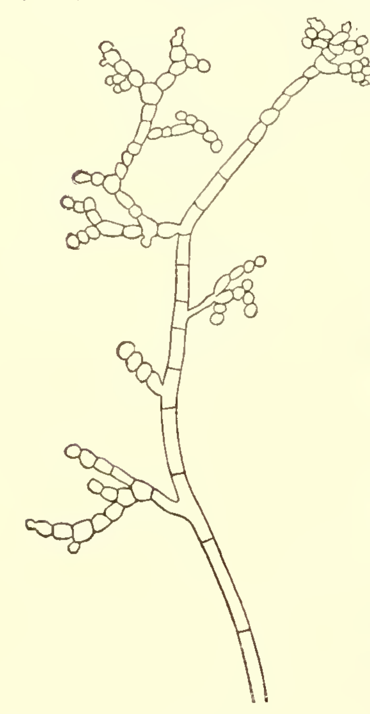


Fig. 121.

Dieser Pilz kann als ein wahres Museum aller möglichen Enzyme angesehen werden. Diesem außerordentlichen Reichtum an sozusagen allen bekannt gewordenen Enzymen verdankt er es auch, daß er sowohl anaërob als auch aërob überall und bei jeder Ernährung gedeihen kann. Allerdings bevorzugt er eine mindestens sehr geringe Sauerstoffspannung, denn beim Ausschluß jedweden freien Sauerstoffes ist sein Wachstum sehr beschränkt. Unter allen Umständen, auch bei alleiniger Eiweißnahrung, erzeugt er reichlich Ester. Die Alkoholbildung durch ihn ist sehr gering.

Erwähnt sei noch die

Monilia javanica Went,

welche sich auch neben anderen Pilzen im „Ragi" findet, aber keinen besonders guten Arrak liefert, da von ihr zahlreiche flüchtige Gärprodukte gebildet werden, die den Geschmack und Geruch beeinträchtigen. In zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten bildet die Mo-

nilia zuerst eine Kahmhaut, worauf die alkoholische Gärung erst einsetzt, bei der im Maximum etwa 5 % Alkohol erzeugt werden.

4. Gattung: Chalara.

Diese Gattung umfaßt nur die Art: Chalara Mycoderma Cienkowski.

Der Pilz wurde in Kahmhäuten auf Wein, Bier, Sauerkrautbrühe u. dgl. gefunden. Das reich verzweigte Myzel desselben besteht aus langen Sprossen, an deren Berührungsstellen mehr kugelige bis elliptische Konidien abgeschnürt werden. Öfters sitzen dieselben auf kurzen, rudimentären Sterigmen. Die Konidien selbst messen 4—6 μ, selten bis 11 μ in der Länge.

5. Gattung: Sachsia.

Sachsia suaveolens Lindner.

Von P. Lindner wurde diese Art aus einem Brennereibottich reingezüchtet. In Würze bildet dieser Pilz große Flocken, die aus reichverzweigten, lockeren, sprossenden Fäden zusammengesetzt sind. Auf der Würzegelatine gezüchtet, entsteht ein blendend weißes Luftmyzel, das später zusammenfällt. Nur bei höherer Temperatur stellt sich eine alkoholische Gärung ein, die nach langer Dauer sehr viel Alkohol liefert. Vergärt wird von dieser Art: Glukose, Fruktose, Mannose, Galaktose, Saccharose, Laktose, Maltose, Dextrin, Raffinose und β-Methylglukosid. Ausgezeichnet ist der Pilz durch die Bildung eines Bukettstoffes von sehr feinem Aroma, das an dasjenige des Moselweines sehr erinnert. Man nennt den Pilz deshalb auch Weinbukettschimmel. Wegen dieser Fähigkeit und dem Mangel der alkoholischen Gärung bei tieferen Temperaturen wurde dieser Pilz auch zur Herstellung eines bukettreichen, säuerlichen alkoholfreien Getränkes benutzt, das im wesentlichen ein Gemisch von Apfelsaft und Würze vorstellt. Die Säuerung besorgt Bacillus Delbrücki.

6. Gattung: Oidium.

Wir können die Gattung kurz mit Wichmann[1]) charakterisieren: „Die Arten der Gattung Oidium sind durch ein typisches Myzel charakterisiert, das aus gefächerten, unregelmäßig verzweigten Hyphen besteht, welche meist an den Enden, aber auch in der Mitte, in kurz-zylindrische Zellen von fast rechteckigem, nur an den Ecken etwas abgerundeten Umriß zerfallen. Sprossung kommt im Bereiche dieser Gattung nur ausnahmsweise vor.“ Von den bekannteren Arten sei hier näher hingewiesen nur auf das

Oidium lactis Fresenius.

Dieser als Milchschimmel bekannte, sehr weitverbreitete Pilz findet sich wohl fast immer auf saurer Milch, in die er aus den Molkereigeräten kommt. Desgleichen kann er mit Recht als konstanter Bewohner der Butter gelten. Weitere Standorte sind dann Mist, Abwässer, saure Gurken, Stärke usw.

Bei dem Wachstum des Pilzes in Nährflüssigkeiten und auch auf festeren Nährsubstraten entstehen bei der künstlichen Zucht dickfilzige, pelz-

1) Wichmann, H., Die Monilien und Oidien Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. IV, S. 342.

artige Rasen, von denen sich Hyphen in die Luft erheben, wenn die Kulturen alt sind. Auf den natürlichen Nährböden sehen die Deckenbildungen verschieden aus. Bald stellt sich nur ein weißer, feinfädiger Flaum ein, bald findet man eine mehlartige, trockene Auflagerung und selten auch eine solche von mehr schleimiger Beschaffenheit. Die Verflechtung kann soweit gehen, daß der ganze Belag gasdicht wird und von den darunter entstehenden Kohlensäuremassen gebläht wird. Dieses Myzelium wird von gefächerten, unregelmäßig und reichverzweigten Hyphen mit anfangs langen Zellen zusammengesetzt. Das jugendliche Myzel und das Auswachsen der Konidien ist durch schlauchförmige Zellen gekennzeichnet. In Fig. 122 nach Linder sehen wir in *IV* bei 600facher Vergrößerung eine reichverzweigte Hyphe mit noch schlauchförmigen Zellen. Später findet dann eine reichliche Querwandbildung statt, wie es *V* dieser Figur zeigt. In *VI* sehen wir endlich den Zerfall der septierten Hyphe in die fast rechteckigen Oidien, wodurch im Zickzack gekrümmte Ketten entstehen. Auch die Konidien besitzen die Oidienform. Ihre Bildung verläuft in der Weise, daß sich eine vom Substrat erhebende Hyphe nach Einstellung des Spitzenwachstumes durch Einfügung von Querwänden in kurze Zellen teilt, die dann frei werden und sich erst vor der Keimung abrunden. Häufig tritt aber auch der Fall ein, daß durch Querteilung eines mittleren Hyphenstückes Koniden entstehen.

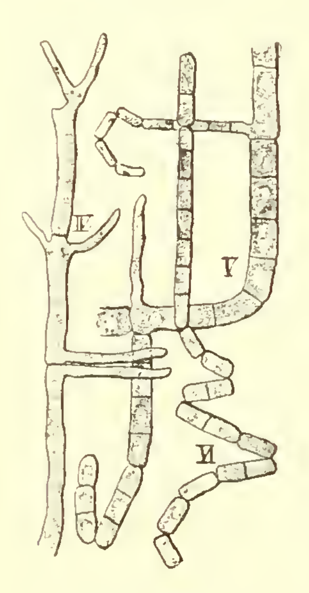


Fig. 122.

Auch Oidium lactis erregt die alkoholische Gärung, wobei aber nur geringe Mengen von Alkohol nach längerer Zeit gebildet werden, die 1 % kaum übersteigen. Dextrose und Milchzucker wird entschieden am leichtesten vergoren. Milchsäure wird von den Oidien verzehrt, weshalb in saurer Mich der Säuregehalt sinkt. Oidium lactis greift auch die Eiweißkörper im allgemeinen stark an.

7. Gattung: Dematium.

Dematium pullulans de Bary.

Dematium ist ein häufiger Bewohner von Stroh und Mist, dann Gerste, weshalb er in der Brauerei vorkommt, und auch von Trauben und Obstfrüchten. Wir finden bei ihm ein vielverzweigtes, farbloses Myzel. Die einzelnen Glieder desselben erzeugen reichlich ellipsoidische Konidien, sofern die äußeren Verhältnisse des Nährsubstrates es zulassen. Gehemmt wird die Fruktifikation in über 50 %igen Trauben- und Rohrzuckerlösungen und durch Temperaturen über 30—31 ° C.

Beim freien Luftzutritt zur Nährflüssigkeit verwandeln sich die schlanken, ungefärbten Myzelzellen in bauchig aufgetriebene Formen, Gemmen, die sehr verdickte Zellwände von olivgrüner bis brauner Färbung bekommen. Im Plasma derselben fallen kleine und große Öltropfen in großer Zahl auf. Die Zellwände neigen zu sehr starken Verschleimungen, so daß das ganze Nährsubstrat eine fadenziehende Beschaffenheit annimmt.

Bei Dematium pullulans beobachtet man auch eine Duchwachsung von Zellen, wobei ein Eindringen der Zellen des Myzeliums in benachbarte desselben Myzels erfolgt. Dadurch entstehen im Innern der Wirtszelle durch Abschnürungen der eingedrungenen Zelle zahlreiche Sproßzellen von ellipsoidischer Gestalt, die zur Annahme einer Askosporenbildung Veranlassung geben können. In Fig. 123 *a*, *b* und *g* sieht man die eingewachsenen Zellen, welche bereits Konidien abschnüren. *f* könnte in

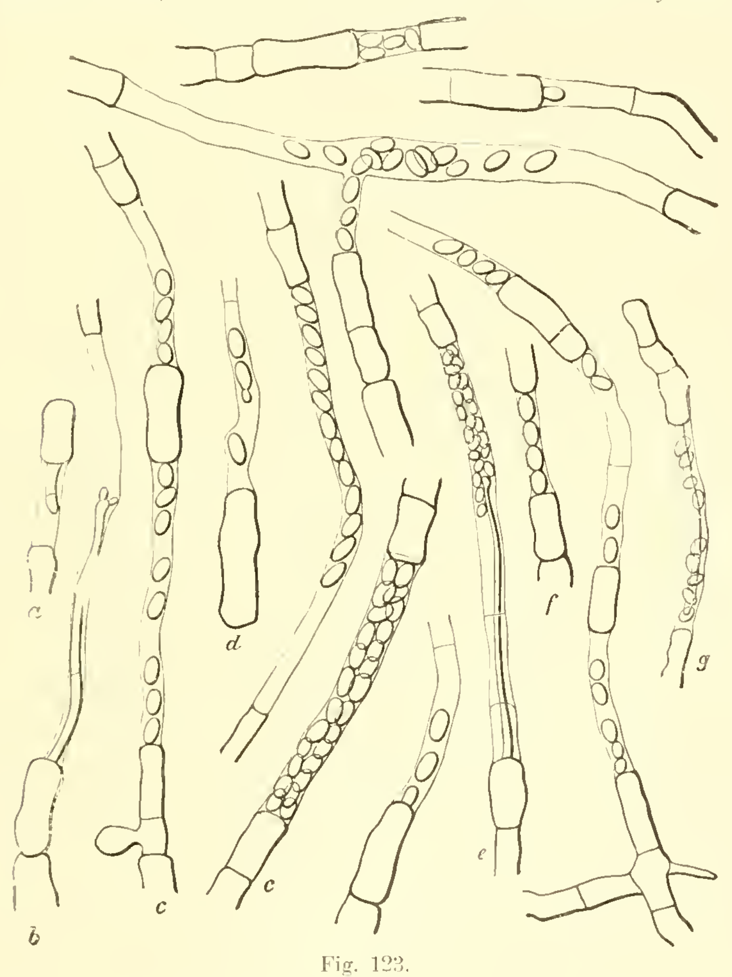


Fig. 123.

der Tat ein viersporiges Sporangium vortäuschen. In *a* sieht man ein sprossendes Konidium. Diese Figur wie die anderen dieser Vorlesung sind dem Handbuche der technischen Mykologie von Lafar entnommen.

8. Gattung: Endomyzes.

Endomyces fibuliger Lindner.

Er ist der Erreger der Kreidekrankheit des Brotes, wobei er auf demselben kreideweiße Beläge hervorbringt. Auf gärenden Flüssigkeiten

bildet er durchfeuchtete Wattebäuschchen ähnliche Myzele. In Würze erzeugt er ebensolche, kräftige Decken und eine Bodensatzvegetation aus Sproßmyzelien und Gemmen. Die an Lufthyphen, die besonders auf festen Nährböden erzeugt werden, zur Abschnürung gelangenden Konidien besitzen an ihrer distalen Seite eine gleichmäßig runde Form, während die Abschnürungsstelle zugespitzt ist. Die Sporen sind hutförmig.

Hier können noch zwei andere Gattungen von Fungi imperfecti angeschlossen werden, **Monospora** und **Nematospora**, die aber für die technische Mykologie sozusagen bedeutungslos sind.

Literatur zur Vorlesung XXIX.

Kohl, F. G., Die Hefepilze. Leipzig 1908.

Wichmann, H., Die Monilien und Oidien. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. IV, S. 334.

Lindau, G., Mycosphaerella Tulasnei und Sphaerulina intermixta bzw. Cladosporium herbarum und Dermatium pullulans. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. IV, S. 270.

DREISSIGSTE VORLESUNG.

Alkoholische Milchgetränke. Krankheiten von Bier und Wein.

Wir haben sowohl Bakterien als auch Hefen kennen gelernt, die aus verschiedenen Nahrungs- und Genußmitteln gewonnen wurden, in denen sie ganz bestimmte Umsetzungen hervorrufen. In vielen Fällen vermag aber eine einzige Art nicht alle diejenigen Veränderungen des ursprünglichen Substrates hervorzubringen, die das fertige Endprodukt charakterisieren. Unter diesen Umständen sind immer mehrere Arten von Mikroorganismen tätig, die nebeneinander arbeiten. In diesem Sinne werden viele Nahrungs- und Genußmittel durch gemischte Gärungen erzeugt. Dies gilt in ganz hervorragendem Maße für die zahlreichen, mehr oder weniger viel Alkohol enthaltenden Milchgetränke, von denen die meisten sogenannte Nationalgetränke sind und nur von bestimmten Völkerschaften in der ursprünglichen Form erzeugt werden. Mit ihnen wollen wir uns zunächst etwas eingehender beschäftigen.

Das **Mazun** ist ein solches im asiatischen Westen heimisches, ziemlich saures und alkoholhaltiges Milchgetränk. In Armenien erzeugt man es in den Städten meist aus Kuhmilch, auf dem Lande aber aus Ziegen- oder Büffelmilch. Es dient nicht nur pur oder mit Wasser verdünnt als Getränk im heißen Sommer, sondern auch als Gär- und Säurewecker beim Buttern und zur Bereitung von Mehlspeisen. Die geronnene Milch weist noch einen angenehmen, aromatischen Geruch auf. Die Herstellung geschieht in der Weise, daß die aufgekochte Milch bis etwa 37° C abgekühlt und mit einem älteren Stück eingetrockneten Mazuns geimpft wird. Das Gefäß wird mit wärmeisolierenden Schichten aus Tuch umgeben, um den Inhalt warm zu erhalten. Nach etwa 12—18 Stunden ist das Mazun genußreif. In ihm findet sich eine reiche Flora von Bakterien und Hefen und meist auch Oidium lactis. Die Säuerung besorgen Laktobazillen, die wir schon früher kennen lernten, während die allerdings schwache Alkoholbildung auf die Mazunhefe zurückgeht, unter der wir aber keine einheitliche Art verstehen dürfen. Man konnte neun verschiedene Hefearten rein züchten, von denen drei Laktose zu vergären imstande sind. Eine Anomalusart ist wegen ihrer Fähigkeit, einen angenehmen Fruchtestergeruch zu erzeugen, interessant.

Ein anderes säuerliches Milchgetränk mit einem sehr geringen Alkoholgehalt von etwa 0,8% im Maximum ist der **Ja-urt**, **Yoghurt** oder auch Yaoërt der Bulgaren, Griechen und Türken. Derselbe stellt

aufgeschüttelt eine mehr dickliche Flüssigkeit von stark saurem aber angenehmen Geschmack vor. Man erzeugt den Yoghurt durch Verimpfen von mit Milch vermischten alten Yoghurt in die gekochte und wieder auf 40—45° abgekühlte Milch, deren weiterer Abkühlung man durch wärmeisolierende Umhüllungen und Bedeckung vorbeugt. Häufig engt man die Milch vor dem Impfen beim Kochen noch auf ihr halbes Volumen ein. Jetzt erhält man das Ferment dieser Sauermilch in Form gelbweißer Pulver oder Tabletten überall und kann sich bequem im Hause das Getränk bereiten. Die Gärdauer ist kurz und beträgt bei der angegebenen Temperatur 8—12 Stunden. Auch hier spielen Laktobazillen bei der milchsauren Gärung die einzige Rolle, dürfen aber für die Alkoholproduktion nicht verantwortlich gemacht werden, wiewohl dieses von einigen Seiten behauptet wird. Daneben finden sich noch peptonisierende Milchbakterien, die aber kaum eine Bedeutung besitzen und nur als Verunreinigung aufgefaßt werden können. Weiter findet man im natürlichen Yoghurt immer Hefen und Mykodermen, die aber auch nicht als notwendiger Bestandteil aufgefaßt werden müssen, sofern man auf den Alkoholgehalt des Getränkes als normales Vorkommen verzichtet. Übrigens ist der Alkoholgehalt außerordentlich gering und erreicht gewöhnlich nicht einmal $^1/_{10}$%, wie aus den untenstehenden Analysenergebnissen Fuhrmann's hervorgeht. Daraus ersieht man auch, in welchem Umfange die wichtigen Milchbestandteile bei der Yoghurtgewinnung unter Verwendung von Maya bulgaris als Ferment verändert werden.

Bestandteile	100 g der verwendeten sterilisierten Kuhmilch enthielten	100 g des mit Laktobazillen hergestellten Yoghurts enthielten	100 g des mit Maya (Paris) hergestellten Yoghurts enthielten
Kasein + Albumin	3,7290 g	3,6854 g	3,3380 g
Fett	3,1320 „	3,1210 „	3,0890 „
Milchzucker	4,8310 „	4,2210 „	3,8200 „
Nichtflüchtige Säure, als Milchsäure berechnet	0,0937 „	0,5580 „	0,6201 „
Flüchtige Säure, als Essigsäure berechnet	0	0,0174 „	0,0264 „
Fettfreie Trockensubstanz	9,6680 „	9,6870 „	10,1410 „
Alkohol	0	0	0,0890 „
Aldehyd	0	0	Spuren

In der ersten Kolonne ist die Zusammensetzung der zur Vergärung genommenen, sterilisierten Kuhmilch angegeben. Die nächste Spalte gibt die Analysenwerte für einen Yoghurt, der hefenfrei durch 24 Stunden nur mit Laktobazillen vergoren wurde, während die letzte Spalte die Analysenzahlen des mit dem Mayaferment in derselben Zeit hergestellten Yoghurtes enthält. Wir erkennen in beiden Fällen nur eine geringe Abnahme des Kasein- + Albumingehaltes und auch des Milchfettes, während die Laktose in größerem Umfange verschwindet. Der mit Maya hergestellte Yoghurt enthält mehr freie Säure, mehr flüchtige Säure und eine geringe Menge Alkohol. Der vorhandenen Hefe kommt nur noch die Bildung eines etwas aromatischen Geschmackes in der Sauermilch zu.

Den beiden genannten Sauermilcharten steht das sizilianische **Mezzoradu** oder **Gioddu** sehr nahe und auch das ägyptische **Leben**. Zur Be-

reitung verwendet man ebenfalls gekochte und auf 40° abgekühlte Milch, die von dem alten Getränk verimpft und dann warmgehalten wird. Auch hier ist die Gärdauer kurz, denn sie beträgt etwa 6—10 Stunden. Auch diese Sauermilcharten enthalten vorwiegend Milchsäure neben wenig Alkohol, flüchtigen Säuren und etwas Estern, die dem Ganzen einen aromatischen Geruch verleihen. Die Flora ist auch sehr ähnlich und besteht aus Milchbakterien und Hefen, vielleicht auch Mykodermen.

Ein weiteres, aber alkoholreicheres Milchgetränk ist der **Kefir**, dessen Herstellung bei niederen, meist etwas unter 20° liegenden Temperaturen erfolgt. Erwünscht ist dabei neben dem hohen Alkoholgehalt noch ein Reichtum an Kohlensäure und eine sehr feinflockige Beschaffenheit des gefällten Kaseins, die man dadurch erreicht, daß man während der Gärung den Inhalt öfter durchschüttelt. Neben der Bezeichnung Kefir finden wir für dieses Getränk noch die Bezeichnungen Kiaphir, Kehapu, Kepü und Chüppo. Nach den Angaben von Podwyssozki wird die Milch im Beginne der Säuerung auch Dschuurt genannt, dessen weitere Vergärung unter reichlicher Milchsäurebildung und Bildung von Kohlensäure und Essigsäure zum Airan führt, der von den Bewohnern des

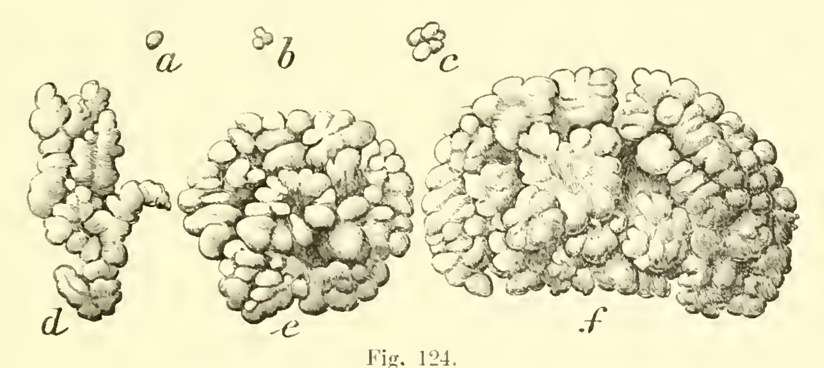


Fig. 124.

Kaukasus als außerordentlich saures Getränk genossen wird. Die Bereitung des Dschuurt geschieht in Tontöpfen oder eisernen Geschirren, während der Airan in Holzgefäßen oder Lederschläuchen vergoren wird. Nur der für den städtischen Vertrieb hergestellte Kefir wird in Flaschen bereitet. Zur Kefirgewinnung benutzt man vielfach Kuhmilch, aber auch Schaf- und Ziegenmilch. Beim Impfmaterial geht man im Heimatlande des Kefir vom oben genannten Airan aus, der ursprünglich so hergestellt wird, daß Ziegenmilch in ein Gefäß von Eichenholz und in diese ein Stück Kalbs- oder Hammelmagen gegeben wird. Der vergorene Airan wird abgezogen und in der Folge immer wieder Milch nachgegossen. Am Boden und an den Wänden des Gärgefäßes bilden sich dabei schleimige Klümpchen, die getrocknet werden und dann das Impfmaterial für den Kefir, die Kefirkörner, abgeben. Dieselben werden von den Mohamedanern als „Hirse des Propheten" bezeichnet und als göttliches Geschenk aufgefaßt, das der Legende entsprechend von Hirten des Kaukasus im Gebüsch aufgefunden worden sein soll. Die Kefirkörner findet man auch als „Gribki" bezeichnet. In Fig. 124 sehen wir dieselben von *a—c* in trockenem und *d—f* in geqnollenem Zustande in natürlicher Größe nach Kern abgebildet. Im Mutterlande bereitet man den Kefir aus den Körnern in der Weise,

daß man die frische oder abgekochte Milch der Kuh oder Ziege in Ziegenlederschläuche einfüllt, mit den Kefirkörnern beimpft und gut verschließt. So bleiben sie an einem kühlen Ort einige Tage stehen.

Bei der Herstellung des Kefir in Flaschen unter Verwendung der trockenen Kefirkörner verfährt man nach Biel folgendermaßen: Die Körner werden zuerst in lauwarmem Wasser zur Quellung gebracht und darin gereinigt. Dann reaktiviert man sie durch Einbringen in frische Milch, die täglich gewechselt wird. Sobald sie während der Gärung an die Oberfläche zu steigen beginnen, was etwa nach 8tägiger Behandlung einzutreten pflegt, sind sie zum Kefiransatz brauchbar. Jetzt werden sie in das etwa dreifache Milchvolumen gebracht und die Gärung in offenen, mit wenig Watte oder Gazestoff bedeckten Flaschen unter häufiger Bewegung vollzogen. Dieselbe soll bei 15—18° C etwa 8—12 Stunden dauern. Dann zieht man die angegorene Milch in andere Flaschen mit einem starken Verschluß ab, verdünnt sie eventuell mit dem gleichen bis doppelten Volumen gekochter und wieder abgekühlter Milch und läßt nachgären, während die zurückgebliebenen, gequollenen Körner nach kurzer Waschung zu einem neuerlichen Ansatz dienen. Für die Nachgärung hält man die Flaschen bei oder etwas unter 15° C und erhält so nach einem Tag schwachen, nach zwei Tagen mittelstarken und schließlich nach drei Tagen starken, zum Gebrauch fertigen Kefir. Allwöchentlich einmal müssen die im Betrieb stehenden Kefirkörner einer gründlichen Reinigung unterzogen werden, die darin besteht, daß man dieselben mit Wasser wäscht und auf 2 Stunden unter öfterem Umrühren in eine 1%ige Sodalösung einträgt. Mitunter nehmen einzelne gequollene Körner eine schleimige Beschaffenheit an und werden dann durchsichtiger. Auch erscheinen sie blasig aufgetrieben. In diesem Falle handelt es sich um eine Fremdinfektion, die sorgfältig vermieden werden muß. Vor allem entfernt man alle irgendwie verändert aussehenden oder sich schleimig anfühlenden Teile. Zur Unterdrückung der fremden Mikroorganismen erwies sich auch eine 0,02%ige Salizylsäurelösung als ausgezeichnet, in die die Körner auf 24 Stunden eingebracht werden.

Im Kefir treten mindestens zwei Gärvorgänge in den Vordergrund und liefern diejenigen Stoffe im fertigen Produkt, die für ihn charakteristisch sind. Es ist die Milchsäuregärung des Milchzuckers und die alkoholische Gärung. Außerdem wird ein Teil des Kaseins peptonisiert und abgebaut, während der Rest in feinster Verteilung durch die gebildete Milchsäure ausgeschieden wird. Schon die Analysenergebnisse an Kefir deuten auf die genannten Hauptveränderungen der ursprünglichen Milchbestandteile hin.

Die folgende kleine Tabelle[1]) enthält die Mittelzahlen von 33 Kefiranalysen:

Wasser	Gesamt-stickstoff-substanz	Kasein	Albumin	Azid-albumin	Hemi-albumose	Pepton	Fett	Milch-zucker	Milch-säure	Alkohol	Asche
88,86 %	3,39 %	2,80 %	0,38 %	0,25 %	0,18 %	0,03 %	2,76 %	2,52 %	0,98 %	0,84 %	0,65 %

1) König, J., Die menschlichen Nahrungs- und Genußmittel. Berlin 1904, Bd. II, S. 747.

Der Alkoholgehalt erscheint in der obigen Zusammenstellung verhältnismäßig gering, was man aber damit erklären muß, daß es sich eben um eine Durchschnittszahl handelt. Häufig erreichen die Werte für den Alkohol 1—1,5 %.

Die bei der Kefirgärung tätige Mikrobenflora findet sich bei den einzelnen Autoren verschieden angegeben, was aber bei dem allerdings sehr verschiedenen Ausgangsmaterial nicht allzusehr verwundern kann. Wenn man versucht, das Wesentlichste in dieser Hinsicht aus den zahlreichen Angaben herauszuschälen, so kommt man zu dem Ergebnis, daß es sich dabei jedenfalls um eine Mischgärung von Bakterien und Sproßpilzen handelt. Zahlreiche eingehende Untersuchungen haben ergeben, daß das Kefirkorn in den äußeren Teilen vornehmlich Sproßpilze enthält, dann gewöhnliche Milchsäurebakterien und schließlich im Innern sporenbildende, dem Heubazillus nahestehende Kefirbakterien. In den getrockneten Kefirkörnern kann man allerdings noch eine Reihe von anderen Mikroorganismen nachweisen, die aber als Verunreinigung aufzufassen sind. Die Milchsäurebakterien rekrutieren sich aus Laktobazillen und Milchsäurestreptokokken. Die vorgefundenen Sproßpilze gehören zur Gattung Torula, zeigen also keine Sporenbildung. Sie vergären die Laktose, was besonders für die Torula Kefir gilt. An Verunreinigungen stellen sich in erster Linie neben Kartoffelbazillen Oidium lactis und einige Schimmelpilze ein.

Für die eigentliche Kefirgärung soll nur von Bedeutung sein die genannte Torula Kefir und das den Laktobazillen zugehörige Bacterium caucasicum. Neuere Untersuchungen, die mit ausgetrocknetem und älterem Material angestellt wurden, ergaben das Fehlen der Laktobazillen, die in diesem Ausgangsmaterial wahrscheinlich infolge der langen Trocknung und des Alters einfach nicht mehr lebensfähig waren, während natürlich die sporenbildenden Arten bzw. deren Sporen reichlich sich ungeschädigt erhalten konnten. Wir finden für die Flora in diesem Falle neben Hefen Milchsäurestreptokokken und zwei Arten sporenbildender Bakterien angegeben. Es sind dies der Bacillus esterificans Maaßen und der Bacillus Kefir, der den aëroben Buttersäurebakterien außerordentlich nahesteht.

Die Sproßpilzbefunde aus Kefir sind auch keineswegs einheitlich. Es wurden in erster Linie sporenfreie Hefen, also eigentlich Torulaarten isoliert und dann auch echte Saccharomyzeten. Von Bedeutung sind nur die milchzuckervergärenden Arten, wie Saccharomyces Kefir Beijerinck, Saccharomyces fragilis Jörgensen und Torula Kefir; daneben fand man auch Arten, die die Laktose nicht unmittelbar zu vergären vermögen. Interessant ist noch der sporenbildende Saccharomyces cartilaginosus wegen seiner knorpeligen und gekrösartigen Kolonien, die vielleicht beim Entstehen der Kefirkörner eine nicht unbedeutende Rolle spielen.

Ein anderes Milchgetränk ist der **Kumiß**, welcher in den russischen und sibirischen Steppengebieten aus Stuten- und Eselinmilch auf verschiedenartige Weise bereitet wird. Meist dient zur Weiterverimpfung alter Kumiß oder aber der an der Sonne getrocknete Bodensatz desselben, der dann „Kor“ genannt wird. Nach den Angaben von Rubinsky[1]) „dient Baschkiren und Tartaren als Ausgangsmaterial für den nur während

1) Zitiert nach Löhnis, Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, S. 292.

der Sommermonate bereiteten Kumiß „Katik“ und „Airán“. Katik ist abgerahmte, saure, mit Wasser versetzte Kuhmilch, die auch als Getränk genossen wird. Zur Herstellung von Airán wird Katik gekocht und mit kochendem Wasser verdünnt; bei der oft monatelangen Aufbewahrung in offenen Gefäßen stellt sich Kohlensäureentwicklung ein. Von Airán erhält man nach 5—6, von Katik nach 8—10 Übertragungen normalen Kumiß. Fehlt es an Katik oder Airán, so bereitet man aus frischer Bierhefe, Weizenmehl, etwas Honig und Milch einen Teig, den man in der Wärme in Gärung geraten läßt und dann in ein Stück Leinwand gehüllt in die etwa 10fache Milchmenge bringt.“

Ein sehr alkoholreiches Getränk brauen sich die Tartaren im taurischen Gouvernement, indem sie dazu 10 Teile Stutenmilch, 1 Teil Branntwein und 1 Teil Honig verwenden, damit Krüge füllen und sie dann in die Erde eingraben, wo die Masse gärt. Zur Bereitung von Kumiß verwendet man auch Holzgefäße und Säcke aus Pferdehaut. Meist wird die Gärungstemperatur sich um 20° bewegen. Eine höhere Temperatur befördert die Säuerung des Produktes.

Der Kumiß ist durch einen hohen, sich zwischen 1,5—3 % bewegenden Alkoholgehalt und einen erheblichen Säuregehalt, der 1—1,5 % beträgt, ausgezeichnet. Bei der Kumißgärung erleiden die Eiweißstoffe der Milch eine wenig tiefgreifende und wenig ausgedehnte Zersetzung. Das Milchfett scheint überhaupt intakt zu bleiben. In der folgenden kleinen Tabelle[1]) sind Mittelzahlen für die Bestandteile des Kumiß aus verschiedenen Milcharten angegeben, aus denen die Zusammensetzung desselben ohne weiteres erhellt.

Kumiß aus:	Anzahl der Analysen	Wasser %	Alkohol %	Milchsäure %	Milchzucker %	Stickstoffsubstanz %	Fett %	Asche %	Kohlensäure %
Stutenmilch . .	65	91,29	1,72	0,87	1,98	2,27	1,46	0,41	0,73
Kuhmilch . . .	10	89,20	1,14	0,55	4,09	2,66	1,43	0,43	0,86
Abgerahmter Milch . . .	9	89,55	1,38	0,82	3,95	2,89	0,88	0,53	0,77
Molken . . .	1	91,07	1,38	1,26	4,34	1,01	0,15	0,79	—

Nach den neuesten Untersuchungen von Rubinsky über die Mikroorganismen der Kumißgärung, die den Mitteilungen von Löhnis entnommen sind, finden sich dabei neben wenigen Streptokokken in Kettenverbänden liegende schlanke Stäbchenbakterien und Hefezellen. Die Stäbchenbakterien gehören zu den Laktobazillen mit verzweigt wachsenden Kolonien und wachsen am besten auf Molke und Kumißnährböden, während sie auf Fleischnährsubstraten kaum zur Entwicklung zu bringen sind. Für sie liegt in der Reinzucht das Temperaturoptimum für das Wachstum bei 30—37° C, während sich dasselbe beim Zusammenleben mit der Hefe bei 25—32° C befindet.

Hier zu nennen ist auch das als Arakà bezeichnete Getränk sibirischer Völkerschaften, das durch mehrmalige Destillation vergorener Milch erhalten wird: das Produkt der aufeinanderfolgenden Destillationen

1) König, J., Die menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, Bd. II, S. 743.

wird immer alkoholhaltiger, aber auch freier von unangenehmen Geruchs- und Geschmacksstoffen. Nach Rubinsky findet sich im ersten Destillationsprodukt, dem eigentlichen Arakà, 10—15 % Alkohol; der aus dem Arakà durch Destillation desselben erzeugte „Dang" enthält 15—20 % Alkohol, während das dritte Destillationsprodukt, die „Orsa" und das vierte, die „Chorza" etwa 50 % Alkohol aufweist.

Man hat noch sogenannten Molkenchampagner und verschiedene andere, mehr oder weniger alkoholreiche Milchgetränke hergestellt und erzeugt solche auch noch vielfach, die unter verschiedenen Bezeichnungen, wie beispielsweise Galactonwein usw. sich im Handel befinden. Eine größere Bedeutung erlangten sie aber kaum, weshalb von deren Erörterung abgesehen werden kann.

Das Bier und auch der Wein erleiden mitunter durch Mikroorganismen Veränderungen, die es zum Genuß minder tauglich oder auch unbrauchbar machen. Solche Vorgänge bezeichnet man kurz als Bier- und Weinkrankheiten, mit deren Erregern wir uns jetzt kurz beschäftigen wollen.

Bierkrankheiten

äußern sich meist in Trübungen des Bieres, in Säuerung und Verfärbung desselben und endlich in dem Auftreten von unangenehmen Geruchs- und Geschmacksstoffen. Die genannten Veränderungen betreffen vornehmlich das fertige Bier, während andere Veränderungen aber auch schon während der Gärung sich ausbilden können. Die hervorragendste Rolle spielen dabei die sogenannten Krankheitshefen, während die Schimmelpilze und Mykodermen kaum in Betracht kommen. Letzteres gilt auch für Bakterien, die normalerweise sich bei dem höheren Alkoholgehalt des Bieres kaum entwickeln und zu besonderen Störungen Veranlassung geben können. Von einem Absterben der Bakterien in Bieren während der üblichen Aufbewahrungsdauer derselben kann aber keine Rede sein, da selbst Flaschenbiere sehr reich an lebenden und entwicklungsfähigen Bakterien sein können, wie entsprechende Untersuchungen dargetan haben. Die Zahl derselben überschreitet oft den Keimgehalt guten Trinkwassers. Selbst pathogene Bakterienarten können sich im Biere längere Zeit hindurch entwicklungsfähig erhalten. Meistens kommt eine nennenswerte Veränderung des Bieres durch diese Infektionen mit zahlreichen Bakterienarten nicht zustande.

Trotzdem sind aber Bakterienarten bekannt geworden, die bei gehäuftem Auftreten eine Schädigung des Bieres hervorzurufen vermögen. Vor allem spielen dabei Pediokokken und Sarzinen eine hervorragende Rolle. Man spricht ja geradezu von einer „Sarzinakrankheit des Bieres". Im untergärigen Bier treten dabei eigenartige Geruchs- und Geschmacksprodukte auf, die so charakteristisch sind, daß man sie schon bei geringer Entwicklung dieser Kugelbakterien herausfindet. Besonders auffallend ist der Geruch von sarzinakranken Bieren. Der Geschmack eines solchen Bieres ist oft schwach sauer, mitunter aber sehr sauer. Die Säuerung geht dabei auf die Bildung von Milchsäure zurück. Hand in Hand mit den genannten Erscheinungen bildet sich auch meist eine

Trübung des Bieres aus, die zuerst nur unwesentlich ist und mit einem zarten Schleier beginnt. In der Folge kann dieselbe sehr stark werden und schließlich wieder verschwinden, indem sich die Pediokokken zu Boden setzen und dort einen zusammenhängenden und mitunter auch fadenziehenden Belag bilden. In demselben ist dann die vorhandene Hefe eingeschlossen. Als Infektionsquelle kommt in erster Linie der Malzstaub in Betracht, dessen Verschleppung durch das Schuhwerk und die Kleider der Arbeiter erfolgt. Wir haben es bei der Sarzinakrankheit des Bieres wohl nicht mit einer Infektion durch eine einzige Art zu tun, sondern nach den vorliegenden Berichten mehrere Pediokokkenarten anzunehmen, die unter günstigen Bedingungen diese Schädigung des Bieres hervorrufen können. Davon sind als Hauptrepräsentanten der Pediococcus damnosus und Pediococcus perniciosus zu erwähnen. Der erstere soll nur den Geschmack und Geruch beeinträchtigen und letzterer überdies auch die Trübung hervorgerufen. Eine gegen Alkohol besonders widerstandsfähige Art ist der Pediococcus Hennebergi.

Einen häufigen Befund bilden besonders in obergärigen Bieren Essigsäurebakterien. In untergärigen Bieren sind sie nur in sehr geringer Zahl anzutreffen. Meist verursachen sie keine Schädigung, was wohl darin seinen Grund hat, daß sie sich nur bei genügendem Zutritt der Luft ausgiebig vermehren und die Essigsäuregärung des Alkohols erregen können. Deshalb findet man sie auch nur in schlecht verschlossenen Bieren oder in wenig gefüllten und nur mit Watte u. dergl. bedeckten Flaschen in starker Vermehrung. Unter diesen Umständen werden sie dem betreffenden Biere allerdings einen mehr oder minder ausgesprochenen Geruch nach Essigsäure und sauren Geschmack verleihen. Sie siedeln sich dann in einer für die verschiedenen Arten meist typischen Kahmhaut an. Es kann übrigens auch zu ausgebreiteten Trübungen kommen, wenn die gerade wachsende Essigbakterienart ein Schwärmstadium besitzt, wie wir es für zahlreiche Essigbakterien schon kennen gelernt haben. Wenn die Essighäute untersinken oder die beweglichen Bakterien zur Ruhe gekommen zu Boden sinken, so entstehen auch deutlich geschichtete Bodensatzbildungen, was für das Lindner'sche Bacterium albuminosum, eine Essigbakterie, geradezu typisch ist. Dasselbe erzeugt nämlich in trübem Bier einen in seiner Konsitenz an das Weiße des Eies erinnernde Bodensätze von schleimiger Beschaffenheit. Man bezeichnet das Essigsauerwerden des Bieres als „Essigstich" desselben.

Die als „Umschlagen des Bieres" bekannte Erscheinung wird dadurch augenfällig, daß im Bier Trübungen und „Schlieren" auftreten, die nach einiger Zeit einer Klärung wieder Platz machen, wobei es zur Bildung eines Bodensatzes kommt. Der Geschmack wird dabei säuerlich verändert. Die Säuerung ist auf eine Milchsäuregärung zurückzuführen. Dieselbe wird meist durch dünne, schlanke Stäbchenbakterien hervorgerufen, die kürzere Fadenverbände bilden. Ein Erreger des Umschlagens des gehopften Lagerbieres ist der Bacillus Lindneri Henneberg. In obergärigen Bieren, die das Umschlagen zeigen, findet man meist den Saccharobacillus Pastorianus, dessen Abart Saccharobacillus Pastorianus var. berolinensis, von Henneberg näher untersucht wurde.

Auch das sogenannte „Langwerden des Bieres" wird durch Spaltpilze hervorgerufen. Dabei bekommt das Bier eine fadenziehende Be-

schaffenheit und Konsistenz von Hühnereiweiß. Bei längerer Aufbewahrung geht die schleimige Beschaffenheit meist gänzlich verloren. Kugelbakterien sind für diese Krankheit selten nachgewiesen worden. Meist sind es Stäbchenbakterien, die durch Bacillus viscosus I und II van Laer dabei vertreten sind und sich besonders in obergärigem Bier finden. Auch Bacillus viscosus III van Dam kommt hier in Frage.

Abnorme Gerüche erzeugen im Bier auch Würzebakterien, besonders aber Thermobakterien, die für den „Selleriegeruch des Bieres" verantwortlich zu machen sind. Auch der „chlorige Geruch" im Bier geht auf die Tätigkeit von Thermobacterium iridescens zurück.

Der sogenannte „Kellergeschmack des Bieres", der in einem dumpfigen, muffigen Geschmack besteht, soll ebenfalls durch eine Bakterie hervorgerufen werden, mit der die Infektion schon auf dem Kühlschiffe geschieht.

Wohl die meisten Bierschädigungen gehen auf Sproßpilze zurück, sei es, daß es sich um Infektionen mit wilden Hefen handelt oder daß von Haus aus mit Mischhefen, also nicht mit Reinkulturen gearbeitet wird. Besonders letztere können alsbald den Charakter schwachvergärender Hefen annehmen. Selbstverständlich spielen dabei auch die Beschaffenheit der Würze, kleine Änderungen in den Braumaterialien, in der Gärtemperatur usw. eine nicht zu unterschätzende Rolle. Dadurch wird einerseits die Kulturhefe ungünstig beeinflußt und andererseits den Schädlingen das Aufkommen erleichtert, so daß sie leicht die Oberhand gewinnen können.

Durch eine Reihe von Krankheitshefen und wilden Hefen kann ebenfalls eine Trübung von Bier hervorgerufen werden. Dies gilt besonders für Saccharomyces Pastorianus Hansen, Saccharomyces turbidans Hansen, Saccharomyces validus Hansen und Willia anomala Hansen. Trübungen werden weiters durch einige Mykoderma- und Torulaarten verursacht.

Unangenehme Geschmacksstoffe werden mitunter von den Kulturhefen bzw. Kahmhautzellen derselben selbst hervorgebracht, wie z. B. das Bitterwerden. Hauptsächlich bringt einen Geschmacks- und Geruchsfehler die Hansenia apiculata Lindner hervor, die sich sehr häufig in gar nicht geringer Menge im Jungbier und auch in Betriebshefen nachweisen läßt. Besonders unangenehm ist eine abnorme Schwefelwasserstoffbildung, die mitunter schon während der Hauptgärung durch die Kulturhefe ausgelöst wird. Die letzte Ursache bildet in diesem Falle die Beschaffenheit der Würze selbst, wenn bis zu einem gewissen Grade auch die Sproßpilzart von Einfluß ist. Entsteht die Schwefelwasserstoffproduktion aber erst beim Lagern im Faß oder in der Flasche, dann liegt die Ursache wohl in wilden Hefen, wie Saccharomyces foetidus I, welchen Frew aus derartig verändertem, englischen Bier züchtete.

Auch die Weine unterliegen zahlreichen, durch Mikroorganismen hervorgerufenen Schädigungen, die man kurzweg als **Weinkrankheiten** bezeichnet.

Das Trübwerden junger Weine ist eine vollkommen normale Erscheinung, die durch das Ausfallen von Weinbestandteilen infolge der Berührung mit der Luft zustande kommt. Wenn aber der bereits klar ge-

wordene Wein sich neuerdings trübt, hat dies seine Ursache in dem Auftreten von Bakterien oder Kahmhefen. Wohl zu unterscheiden sind jene Trübungen von eben auf die Flasche abgezogenen Weinen, die durch das Auftreten einer Nachgärung zustande kommen. Letztere wird hauptsächlich durch die neuerliche Durchlüftung und Verbesserung der Vermehrungsbedingungen der Hefe ausgelöst.

Unter Kahmigwerden des Weines versteht man das Auftreten von Kahmhäuten an der Oberfläche des Weines. Dieselben sind entsprechend dem vorhandenen Kahmpilze weiß oder gelblich. Mitunter trübt sich dabei auch der Wein. Alle Kahmpilze haben die Eigenschaft, den Alkohol zu Wasser und Kohlendioxyd weiter zu oxydieren. Außerdem greifen sie auch die Säuren und Bukettstoffe an. Dabei entstehen eine Reihe recht unangenehmer Stoffwechselprodukte, die den Geschmack und Geruch sehr ungünstig beeinflussen. Es kommt aber auch vor, daß der Säuregehalt durch die Tätigkeit der Kahmhefen steigt. Man bezeichnet die Kahmpilze des Weines auch kurz mit dem Sammelnamen Mycoderma vini.

Nicht allzuselten tritt das Braunwerden oder Rahnwerden der Weine auf, wobei der Wein bei der Berührung mit Luft seine Farbe ändert. Auch der Geschmack wird ungünstig beeinflußt. Dabei handelt es sich um Oxydationsprozesse, die durch Oxydasen beschleunigt werden. Die Herkunft dieser oxydierenden Enzyme kann allerdings verschieden sein. Die schon früher genannte Önoxydase (vgl. S. 352) stammt nun von den Weinbeeren selbst und ist dementsprechend schon im Traubenmost vorhanden. Weiters vermag auch der Erreger der grauen Traubenfäule, Botrytis cinerea, reichlich Oxydasen zu erzeugen, die bei stark von diesem Pilz befallenen Trauben mit in den Most gelangen müssen und später ihre Wirkung unter günstigen Bedingungen äußern können. Erst in letzter Linie ist vielleicht an mikrobielle Oxydasen zu denken. In allen Fällen des Braunwerdens verschwindet die zuerst eintretende Trübung, während sich mehr oder minder viel von einem dunkelbraunen und pulverigen Bodensatz bildet. Es tritt meist eine Ausfällung der Weinfarbstoffe auf, was besonders bei den Rotweinen auffällt.

Zu erwähnen ist hier weiter das Umschlagen oder Brechen des Weines, das man besonders häufig an Rotweinen beobachten kann. Man bezeichnet diese Krankheit auch als modern und faulige Gärung des Weines. Im Anfange der Erscheinungen steht eine geringe Kohlendioxydproduktion. Alsbald stellt sich aber dann eine weitgehende Trübung und Farbenveränderung ein. Wenn auch die Behauptung aufgestellt wird, daß diese Veränderungen durch rein chemische Umsetzungen zwischen Aldehyd und Farbstoff oder aber durch Oxydationen des Gerbstoffes und Farbstoffes zu unlöslichen Verbindungen mit Hilfe der Weinoxydase zustande kämen, so sprechen doch zahlreichere andere Befunde für das Wirken von Bakterien beim Umschlagen. Es wurden schon einige Bakterienarten aus so veränderten Weinen gewonnen, von denen der Oenobacillus Abbae und der Bacillus roseus vini genannt seien. Außerdem soll für diese Erscheinung auch ein Erreger der Mannitgärung verantwortlich sein.

Beim Wein beobachtet man auch eine als Mannitgärung bezeichnete Erkrankung, die durch ein Mannitbakterium verursacht wird.

Dasselbe, ein bewegliches Stäbchen, soll eine Umwandlung von Zucker in Mannit hervorrufen. Eine andere Art soll neben der Mannitbildung noch Alkohol zu Essigsäure oxydieren. Im allgemeinen vertragen die Mannitbakterien keine allzugroßen Wärmegrade, wenn sie auch über ein ziemlich ausgiebiges Anpassungsvermögen in dieser Hinsicht verfügen. Übrigens dürften es gerade Varietäten dieser Bakterien sein, die für eine Reihe von Weinkrankheiten, wie Trübung, Umschlagen und Bitterwerden verantwortlich zu machen sind.

Das Bitterwerden der Weine ist vor allem durch eine Abnahme des Säuregehaltes gekennzeichnet. Es tritt dann eine Fällung des Farbstoffes ein, während auch der Geruch unangenehm und der Geschmack bitter wird. Man hat nun aus solchem, bitter gewordenen Wein eine Reihe von Bakterienarten reingezüchtet, mit deren Kulturen auch eine Infektion des gesunden Weines gelang. So fand man als wirksam eine bewegliche und sporenbildende Art, die stark durch Bildung von Buttersäure, Milchsäure und Essigsäure säuert, wobei besonders in erster Linie Weinstein und Glyzerin zerstört wird. Auch Organismen, die in rotem Wein Aldehyd und Ammoniak erzeugen, können das Bitterwerden durch diese Stoffe verursachen, denn schon eine sehr geringe Zugabe von Ammoniak und Aldehyd zu Rotweinen ruft deren Bitterwerden hervor, wie die Versuche von Trillot dartun. Auch aus dem Glyzerin sich bildendes Akrolein hat ein Bitterwerden von Weinen zur Folge. Man konnte Akrolein auch in bitter gewordenen Weinen immer nachweisen.

Neben Spaltpilzen kommen für das Bitterwerden von Weinen auch höhere Pilze, wie Botrytis, Penicillium und Peronospora in Frage.

Mitunterer tritt auch ein Zähewerden des Weines auf, wobei in demselben zuerst nur eine schwache Opaleszenz zu beobachten ist, die später einem Trübwerden weicht, bis endlich der ganze Wein eine fadenziehende und zähe Beschaffenheit angenommen hat. Dabei findet gleichzeitig eine Mannitbildung und Gummibildung unter Kohlendioxydabgabe statt. Verschiedene Bakterienarten werden für diese Krankheit verantwortlich gemacht, teils Kugelbakterien, teils Stäbchen. Vor allem ist hier zu nennen der Bacillus viscosus vini Kramer, mit dem auch in Reinkultur das Fadenziehen des Weines hervorgebracht werden kann. Frische Weine zeigen nach der Verimpfung in 4 bis 8 Wochen die Erscheinung in ausgesprochenem Maße. Eine weitere, dem Mannitbazillus sicherlich sehr nahestehende Art von Stäbchenbakterien, die sich Säuren gegenüber sehr resistent erweist, wurde ebenfalls als Erreger des „Langwerden von Weinen" beschrieben. Später fand man auch noch andere, der vorgenannten Art ähnliche Mikroben, die sich aber durch die Bildung einer deutlichen Schleimhülle auszeichnen.

Für das Zähewerden des Weines kommt dann noch das Dematium pullulans in Betracht, das sowohl in Most als auch in Wein ausgiebig Schleimstoffe erzeugt.

Weiters müssen hier die sogenannten „Schleimhefen" Erwähnung finden, die zwar in ihrer Mehrzahl keine oder höchstens sehr schwache Alkoholerzeuger sind, aber zu kräftiger Verschleimung Veranlassung geben.

Eine mitunter sich sehr unangenehm bemerkbar machende Weinerkrankung ist der Essigstich des Weines. Hervorgebracht wird derselbe durch eine Reihe von Essigbakterien, deren Biologie wir schon früher kennen lernten. In vielen Fällen geben die bereits den Beeren ansitzenden Bakterien die Veranlassung zur Infektion. Aber auch die Presse selbst ist häufig ein ständiger Sitz der Essigbakterien, wie Versuche von Fuhrmann schon vor längerer Zeit ergeben haben. Meist trifft der Essigstich Weine, die keinen besonders hohen Alkohol- und Säuregehalt aufweisen. Es kann diese durch Oxydation des Alkohols über Azetaldehyd stattfindende Essigbildung jedoch nur dann eintreten, wenn reichlich Luft vorhanden ist oder zum Wein Zutritt hat. Dabei siedelt sich meist eine Bakterienzoogloea an der Oberfläche des Weines an, die eben die Essigbakterien zusammensetzen. Wir haben aber auch Essigbakterien kennen gelernt, die ein Schwärmstadium in ihrem Entwicklungskreis besitzen. Die beweglichen Formen werden dann auch gleichzeitig eine mehr oder minder ausgesprochene Trübung im betroffenen Weine verursachen, wie es auch Untersuchungen aus der Praxis ergeben haben.

Mitunter findet im Weine auch eine beträchtlichere Bildung von Milchsäure statt; in diesem Falle spricht man vom Milchsäurestich oder auch von dem Zickendwerden des Weines. Je nachdem nun neben der dabei auftretenden Trübung und Veränderung des Geschmackes und Geruches die Farbe des Weines in eine weiße, milchige oder dunkelbraune bis schwarze umschlägt, spricht man von weißem oder schwarzem Bruch des Weines. Ursachen der genannten Erscheinungen sind nun vor allem Milchsäurebakterien, die mit den in der Milch auftretenden in vielen Fällen identisch sind. Deshalb muß auch bei der Verwendung von Milch als Klärmittel des Weines mit einiger Vorsicht vorgegangen werden. Als Ausgangsmaterial für die Milchsäurebildung kommen in erster Linie die noch vorhandenen Zuckerreste und auch Apfelsäure in Betracht. So vermag der Micrococcus malolacticus nach Seifert's Angaben aus Apfelsäure Milchsäure kräftig zu erzeugen.

Außer Bakterien kommen für die Milchsäureproduktion noch Hefen und Schimmelpilze auf. Diese Eigenschaft zeigen einige Rassen echter Weinhefen, dann die Hansenia apiculata und einige Mykodermen. Auch hier werden besonders Apfelsäure, dann aber, wenn auch in geringerem Grade, Weinsäure und Bernsteinsäure zu Milchsäure verarbeitet. In geringer Menge, ohne ungünstige Beeinflussung des Weines, findet eine Milchsäurebildung sehr häufig statt.

Nunmehr haben wir uns noch mit der abnormen Bildung von Schwefelwasserstoff in Weinen und Mosten kurz zu beschäftigen. Man bezeichnet diese Erscheinung auch als Böcksern. Dasselbe macht sich eben durch einen intensiven, sehr unangenehmen Geruch nach Schwefelwasserstoff und eine dementsprechende Geschmacksveränderung bemerkbar. Die Schwefelwasserstoffbildung kann ihre Ursache entweder in rein chemischen Umsetzungen haben oder aber in den Hefepilzen selbst. In den meisten Fällen ist dabei der Schwefelgehalt des Mostes von Haus aus abnorm hoch. Dabei ist es aber notwendig, daß sich elementarer Schwefel möglichst in feiner Verteilung vorfindet, da schwefligsaure und schwefelsaure Salze nicht zur Bildung von Schwefelwasserstoff unter den gewöhnlichen Bedingungen führen. Wenn freier Schwefel im

Moste zugegen ist, reduzieren ihn die meisten Kulturhefen. Es gibt aber auch Arten, die ohne freien Schwefel kräftig Schwefelwasserstoff erzeugen, wobei der Schwefel organischen Verbindungen oder der Hefesubstanz selbst entnommen wird.

An der Schwefelwasserstoffbildung können sich gelegentlich auch Mykodermen und Schimmelpilze mehr oder minder intensiv beteiligen.

Literatur zur Vorlesung XXX.

Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. Berlin 1910.

Lafar, F., Handbuch der technischen Mykologie, Bd. II, S. 124.

Will, H., Biologische Untersuchung und Begutachtung von Bierwürze, Bierhefe, Bier und Brauwasser zur Betriebskontrolle sowie zur Hefenreinzucht. Oldenburg's technische Handbibliothek, Bd. X. München und Berlin 1909.

Kossowicz, A., Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie. Berlin 1911.

EINUNDDREISSIGSTE VORLESUNG.

Schimmelpilze.

Unter Schimmelpilzen wollen wir jene echten Pilze zusammenfassen, die ein typisches Myzel als vegetatives Organ ausbilden. Mit Ausnahme weniger Gruppen, Saccharomyzeten, Torula, Mykodermen usw., bilden die Eumyzeten keine echten Verzweigungen. Dabei verstehen wir unter echten Verzweigungen eine Dichotomie des Scheitels einer Hyphe oder eine seitliche Ausbildung eines Astes unterhalb des Scheitels, wobei aber ein unmittelbarer Zusammenhang des Protoplasmas der Seitenäste mit demjenigen der Mutterzelle erhalten bleibt. Der ganze Pilzkörper oder Thallus zerfällt in der Folge in zwei allerdings zusammenhängende, aber in ihrer Funktion scharf zu trennende Teile, das Mycelium und das fruktifikative Organ, das die der Vermehrung der Art dienenden Sporen hervorbringt.

Das Myzel besorgt die Ernährung und sitzt dementsprechend dem Nährsubstrat auf oder verzweigt sich in demselben auf das reichlichste. Seine Entwicklung geht auf die Spore zurück. Wenn letztere auf günstige und brauchbare Nährsubstrate fällt, so keimt sie meist unter starker Quellung in der Weise, daß an einer oder mehreren Stellen ihrer Oberfläche Ausstülpungen hervortreten, die man als Keimschläuche bezeichnet. Wie in einzelnen Fällen werden an Stelle der Keimschläuche Sprosse oder Sproßkonidien ausgebildet, wie wir sie bei den Sproßpilzen als regelmäßig auftretend kennen gelernt haben. Die Keimschläuche wachsen in die Länge und verzweigen sich dichotomisch, bilden also Seitenäste, die sich wieder teilen und so fort. Man bezeichnet nun die Äste als Hyphen oder Pilzfäden. Das Längenwachstum derselben erfolgt nun nur an der Spitze oder am Scheitel, weshalb wir in allen diesen Fällen von reinem Spitzenwachstum sprechen, eine Erscheinung, die die Schizomyzeten, wie wir es bei den Bakterien bereits kennen gelernt haben, nicht aufweisen. Es gibt nun Myzelien mit querwandlosen und solche mit septierten Hyphen. In dieser Hinsicht verhalten sich die einzelnen Eumyzetenordnungen verschieden, wenn wir das eine oder andere als regelmäßige Erscheinung erkennen. Nach der Ausbildung eines unseptierten oder septierten Myzeles teilt man die Eumyzeten in zwei große Hauptgruppen, die Phykomyzeten und Mykomyzeten.

Die Phykomyzeten oder Algenpilze bilden querwandlose oder unseptierte Myzele, die Mykomyzeten oder echten Fadenpilze dagegen septierte Myzelien.

Wir wollen uns zunächst die Entstehungsweise eines septierten, also mit regelmäßigen Querwänden versehenen Myzeles aus der Spore näher betrachten. Die Einzelheiten zeigt uns auch Fig. 125 gut, die aus dem Lafar'schen Handbuch[1]) stammt und nach Zopf angefertigt ist und sich auf den weitverbreiteten und bekannten Pinselschimmel, Penicillium glaucum, bezieht. Aus der Spore *A* werden die Keimschläuche (in *B* und *C*) hervorgetrieben. Alsbald werden dieselben gegen die Spore durch Querwände abgegrenzt, wie es bei *s D* dieser Figur gezeigt wird. Nunmehr verlängern sich die Keimschläuche durch Spitzenwachs-

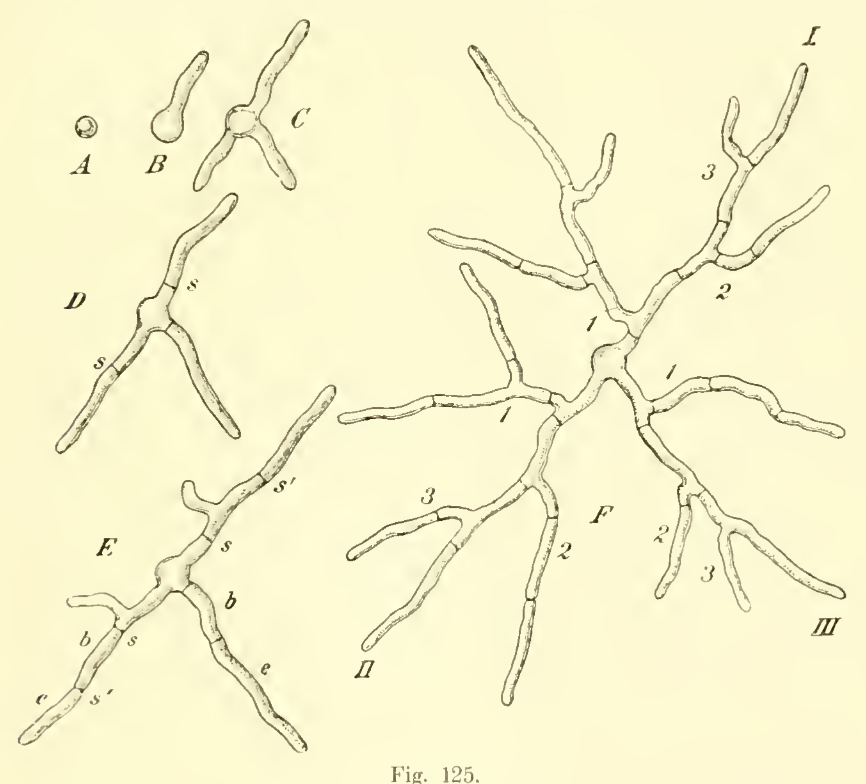


Fig. 125.

tum und es wird in jedem Keimschlauch wieder eine Querwand oder ein Septum, entsprechend *s'* in *E*, ausgebildet. Auf diese Art sind je zwei Zellen entstanden, von denen die zwischen *s* und *s'* liegende Binnenzelle (*b*), die vom Wachstumsmittelpunkt, also der Spore, entferntere aber Scheitelzelle oder Endzelle (*e* in *E* der Fig. 125) genannt wird. Die Binnenzellen weisen kein Längenwachstum mehr auf, von ihnen gehen aber Seitenäste aus, die sich wieder durch Querwände abgrenzen. Inzwischen sind die Scheitelzellen weiter in die Länge gewachsen und haben sich wieder durch Querwände in Binnenzellen zweiter Ordnung und Scheitelzellen geteilt, von denen erstere wieder Seitenäste

1) Lafar, Handbuch der techn. Mykologie, Bd. I, S. 168. Lindau, G., Allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Eumyzeten.

treiben. Inzwischen hat sich aber auch der Seitenast der ersten Binnenzelle verlängert und durch eine Querwand geteilt. So geht dies weiter, solange die Umstände für eine Vermehrung günstig sind. *F* der Fig. 125 zeigt uns schon eine reichliche Verzweigung mit Seitenästen erster, zweiter und dritter Ordnung und den Hauptästen I, II und III. Die Summe aller dieser Fäden entspricht also dem Myzel.

Das Myzel der Phykomyzeten besitzt keine septierten Wände. Man kann deshalb beim Myzel auch nicht eine Vielheit von Zellen wahrnehmen. Es ist eine einzige, aber reichlich verzweigte Zelle, also ein Myzelschlauch. Unsere nach Kny wiedergegebene Abbildung 126 zeigt das Phykomyzetenmyzel am Thallus von Mucor mucedo und außerdem drei verschieden alte und ausgebildete Sporangienträger (*a*, *b* und *c*). Auch dieses Myzel ist aus einer einzigen Spore hervorgegangen; man sieht in der Mitte das Wachstumszentrum, von dem aus sich die unseptierten Hyphen ausgebildet haben. Wenn auch eine Aufteilung der Hyphen durch Querwände in Zellen hier fehlt, so findet doch nicht allzu selten eine Querwandbildung statt, die aber entweder zur Ausschaltung verwundeter Hyphenteile dient oder zur Abgrenzung des plasmareichen Teiles der Hyphen gegen den proximal gelegenen plasmaarmen. Beim Spitzenwachstum der Hyphen fließt das Zytoplasma mit seinen Kernen und Inhaltsstoffen ebenfalls distal dem Scheitel zu. Es findet so eine Abtrennung des für Ernährungszwecke nicht mehr brauchbaren Teiles statt. Aus diesem Grunde heißen solche Septen auch Kammerungswände. Auch die Fruchtständer werden durch solche Kammerungswände abgegrenzt, wenn sich genügendes Nährmaterial in ihnen angesammelt hat.

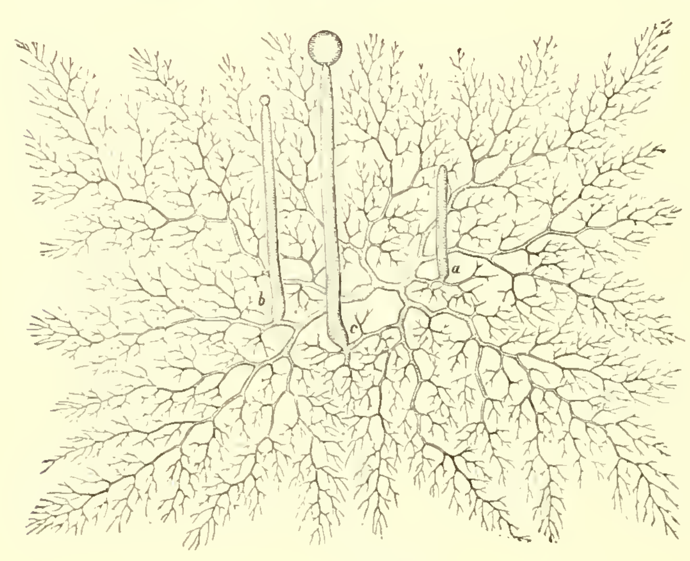


Fig. 126.

Durchwachsungserscheinungen an benachbarten Hyphen sind oft zu bemerken und treten bei einzelnen Arten besonders häufig auf. Wir haben Näheres darüber schon bei der Besprechung von Dematium auf S. 398 gehört.

Die Zelle der Schimmelpilze besteht, wie jede andere Zelle, aus einem Protoplasma mit seinen Einschlüssen und einer Zellhaut.

Das Plasma stellt eine homogene, mehr zähe Grundmasse vor. Dasselbe häuft sich besonders an den Stellen des Wachstums, also an den

Scheiteln, und dort, wo Seitenäste getrieben werden. Es läßt sich durch Plasmolyse von der Zellhaut trennen. Das Plasma befindet sich ständig in einer mehr oder minder starken Strömung und kann, der Zellhaut entkleidet, auch amöboide Bewegungen ausführen. Immer enthält es eine Reihe von geformten Einschlüssen, die sich der Hauptmenge nach mit denjenigen der Bakterien und Hefen decken.

Außerdem beobachtet man im Plasma Kristalle von oxalsaurem Kalk, allerdings ein seltener Befund. Die meisten Einlagerungen kristalloider Natur sind eiweißartige Körper, wie die Substanz der Kristalloide, die man auch als Mucorin bezeichnet hat, welches aber nicht als Reservestoff, sondern als Ausscheidungspunkt zu betrachten ist. Als Plasmaeinschlüsse erwähnenswert sind auch die sogenannten Zellulinkörner. Dieselben sind ungefärbte, kugelige Gebilde von verschiedener Größe, die mehrere konzentrische Schichten aufweisen. Es dürfte sich bei ihnen ebenfalls um Ausscheidungsstoffe handeln, wenn ihnen auch mitunter eine gewisse Tätigkeit unter besonderen Umständen in der Zelle nicht abgesprochen werden kann. Man findet sie ganz besonders in den Zellen von Leptomitus, überhaupt bei Saprolegniaceen. Die unseptierten Hyphen von Leptomitus zeigen in gewissen Abständen Einschnürungen, so daß einzelne äußerlich gekennzeichnete Abschnitte entstehen, die sich aber miteinander in offener Verbindung befinden. In jedem solchen Abschnitt liegen meist ein oder mehrere Zellulinkörner. Bei einer Verletzung der Hyphe strömt Plasma aus und durch den Strom des nachtretenden Plasmas aus den benachbarten Abteilungen werden die Zellulinkörner in die verengten Schnürstellen getrieben, die sie verschließen und so einen weiteren Plasmaverlust verhindern.

An Plasmainhaltsstoffen findet man dann noch fettes Öl und Fette, die aber nicht nur in Hyphen auftreten sondern auch in Sporen. Die Öleinschlüsse sind meist farblos, mitunter aber auch gefärbt.

Für die Kerne der Schimmelpilze gilt in weitem Umfange das, was wir über die Hefekerne bereits berichtet haben. Die Anzahl derselben in den Zellen der verschiedenen Arten ist aber verschieden und abhängig vom Entwicklungszustand.

Die Zellhaut umgibt allseits das Protoplasma und wächst bei den Myzelpilzen auch nur an der Vegetationsspitze, während diejenige der Binnenzellen für gewöhnlich keine Längsstreckung mehr aufweist. Die Membran der unseptierten Hyphen zeigt die gleichen Wachstumsverhältnisse. Häufig beobachtet man Verdickungen der Zellwand, die meist durch Anlagerung neuer Membranstoffe von Seite des Protoplasten erfolgt. Diejenigen Zellen, die in anderen entstehen, wie die Endosporen, erhalten Verdickungen ihrer Wände durch Anlagerung von außen her, die die Form von Höckern, Stacheln, Leisten usw. besitzen.

An den Querwänden treten Poren oder Tüpfel auf und auch feine Kanäle, welche samt und sonders der Vermittlung des Stoffaustausches zwischen den Zellen dienen.

Besonders bei alten Membranen finden Farbstoffeinlagerungen in dieselben oder Auflagerungen von Kristallen statt. Letztere bestehen meist aus oxalsaurem Kalk. Daneben finden noch Ausscheidungen von Sekretstoffen in oder auf die Zellwand statt, von denen harzartige Körper nicht zu seltenen Befunden zählen.

Wir wollen[1] uns noch kurz mit den Vermehrungsorganen oder Fruktifikationsorganen beschäftigen. Dieselben erzeugen eine Zelle, aus der unter günstigen Bedingungen ein Pilz derselben Art hervorgeht. Man bezeichnet solche Zellen, die gewöhnlich sich durch eine derbere Umhäutung und durch größere Widerstandskraft gegen ungünstige Einflüsse und auch durch ein gewisses Ruhestadium auszeichnen, als Sporen. Sie werden im allgemeinen auf zweierlei Art ausgebildet. Wenn vor ihrer Produktion zwei mehr oder minder verschiedene Zellen verschmelzen, so spricht man von geschlechtlicher Fortpflanzung. Das Fehlen der Fusion zweier Zellen findet sich bei der ungeschlechtlichen Vermehrung. Bei einigen Saccharomyzeten haben wir eine geschlechtliche Fortpflanzung schon kennen gelernt. Sie findet sich auch bei Phykomyzeten. Bei derselben können zwei vollständig verschiedene Zellen fusionieren, das Oogon und Antheridium oder es findet eine Verschmelzung von zwei gleichwertigen Zellen statt, in welchem Falle man von Zygosporenbildung spricht. Man faßt die sich unter dem ersten Typus vermehrenden Pilze als Oomyzeten zusammen, während die bei der Fortpflanzung dem zweiten Typus folgenden Phykomyzeten in die Klasse der Brückenpilze oder Zygomyzeten zusammengezogen werden. Letztere enthalten zahlreiche für die Gärungsbetriebe wichtige Arten.

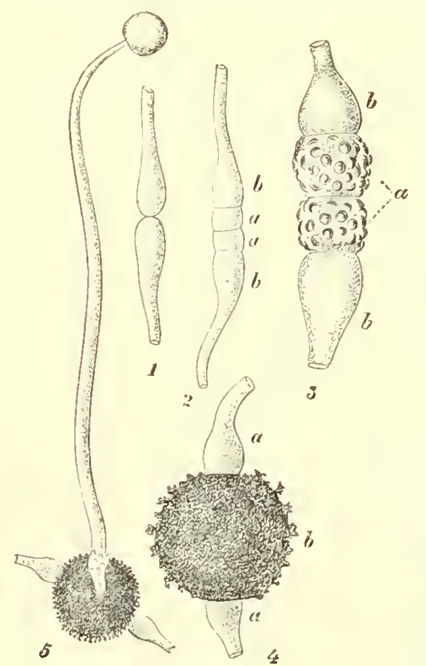


Fig. 127.

Wie wir schon betont haben, entstehen die **Zygosporen** durch Verschmelzung von zwei gleichartigen Zellen. Wir wollen die Bildung derselben am Mucor mucedo verfolgen. In Fig. 127 sind die verschiedenen Stadien derselben nach Brefeld abgebildet. Zwei Hyphen wachsen gegeneinander bis sich die beiden Scheitel berühren. Dabei sammeln sich in denselben zahlreiche Kerne und viel Protoplasma an und ihre Spitzen nehmen eine keulenförmige Gestalt an. In *1* der Figur 127 sehen wir die keulenförmigen Scheitel bereits in Berührung. An der Berührungsstelle findet eine Abplattung und Verwachsung der Zellhäute statt. Hierauf wird an der Grenze des kolbig verdickten Scheitelteiles und der zugehörigen Hyphe eine Querwand eingefügt, wodurch je eine Binnenzelle (*bb* in *2* der Fig. 127) entsteht, die auch Tragzelle oder Suspensor genannt wird, und je eine Scheitelzelle, die Gamete oder Kopulationszelle heißt (*aa* in *2* der Fig. 127). Nunmehr wird die Membran zwischen den beiden Gameten eingeschmolzen und ihr Inhalt fusioniert. Die jetzt entstandene Zelle ist die Zygote oder Zygospore, die allerdings in diesem Stadium noch die Entwicklung aus zwei Gebilden gut erkennen läßt, wie es auch Figur 127 in 3 zeigt. Die Zygote ent-

spricht *a*. Alsbald erfolgt die Abrundung und die Membran verdickt sich stark, während ihre äußere Oberfläche eine warzige Beschaffenheit erlangt. Die Zygospore wird von einer doppelten Membran umkleidet, dem inneren Endosporium und äußeren Exosporium. In *4* der Figur 127 sehen wir die bereits dunkel gefärbte und nunmehr reife, noch an den Suspensoren hängende Zygote, die alsbald von letzteren abfällt und ein Ruhestadium durchmacht. In *5* der Figur 127 sehen wir die Keimung der Zygote, die in diesem Falle zur Bildung eines Sporangienträgers führt.

Die Parthenosporen oder Azygosporen gleichen im fertigen Zustande in ihrer Form den Zygosporen, sind aber nicht durch Verschmelzung zweier Zellen entstanden. Bei ihrer Bildung können alle Stadien einschließlich der Bildung von Suspensor und Gamete durchlaufen werden. Nunmehr findet aber keine Resorption der sich berührenden Membranen statt und mithin auch keine Fusion der Zellinhalte. Jede Gamete entwickelt sich für sich zu einer Spore. Es braucht aber nicht einmal zur Berührung zu kommen, ja sogar das Gegeneinanderwachsen kann wegfallen und es bildet sich einfach am Scheitel einer Hyphe die Azygospore von der Form der Zygote aus.

Die **ungeschlechtliche Sporenbildung** ist entweder eine exogene oder endogene. Dazu kommt noch die Umformung von Myzelzellen zu Dauerformen.

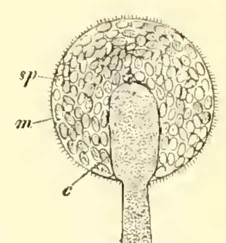


Fig. 128.

Wenn im Innern einer Pilzzelle Dauerformen zur Ausbildung gelangen, so sprechen wir von **endogener Sporenbildung** und bezeichnen die sporenbildende Zelle als Sporangium. Die fertige Dauerform selbst ist die Endospore oder Sporangiumspore oder endlich kurz bezeichnet die Spore. Bei den Phykomyzeten ist dieselbe stets unbeweglich und behäutet, während die Sporen der Oomyzeten, welche Wasserbewohner sind, beweglich sind und als Zoosporen bezeichnet werden. Die Schwärmsporen oder Zoosporen sind unbehäutet und können aus diesem Grunde ihre Form auch bis zu einem gewissen Grade verändern. Die Bewegung wird durch Geißeln hervorgebracht, die sich meist nur in der Ein- oder Zweizahl finden. Die sporenerzeugende Zelle bezeichnet man in diesem Falle auch als Zoosporangium.

Bei der endogenen Sporenbildung zweigt sich vom Myzel eine Hyphe vertikal aufwärts strebend ab und wird zum Träger. Das freie Ende desselben erweitert sich zu einer Kugel oder Blase, in die hinein reichlich Plasma strömt, wodurch der Träger arm an Inhaltsstoffen wird. Nunmehr wird durch eine Querwand die entstandene Kugel vom Träger abgegrenzt, wobei die Wand sich meist stabförmig in die Endblase hineinwölbt. In Fig. 128 sehen wir das Sporangium von Mucor mucedo nach Brefeld im optischen Schnitt abgebildet. *c* entspricht der vorgewölbten Wand, die in ihrer Form an ein Säulchen erinnernd, auch Columella genannt wird. Aus den zwischen letzterer und der Wand der Scheitelzelle (*c* und *m* der Fig. 128) befindlichen Plasma- und Kernmassen werden die zahlreichen Sporen (*sp* der Fig. 128) in der Weise erzeugt, daß ein Kern für jede Spore zur Verwendung gelangt, wobei in vielen Fällen noch ein Plasmarest übrig bleibt. Derselbe scheint durch Quellung die Sprengung des Sporangiums und die Befreiung der Sporen herbeizuführen. Die Zahl der Sporen, ihre Größe und auch diejenige des

Sporangiums ist sehr verschieden und in erster Linie von den Ernährungsbedingungen abhängig.

Die einfachste Form der mehr regellosen Sporangienbildung hat aber bei den Pilzen sich zu besonders geregelten Bildungen von Sporenbehältern entwickelt, die man Askus oder Schlauch bezeichnet, und von denen wir schon einiges bei der Hefe kennen gelernt haben, wenn auch gerade hier die Verhältnisse noch etwas unklar sind. Der Askus ist also ein Sporangium, das in bezug auf seine Form und Größe und auch auf diejenige der darin erzeugten Sporen eindeutig und für die Art einheitlich bestimmt ist. Auch in bezug auf die Art der Ausbildung des Askus und die feineren Kernvorgänge im Innern herrscht eine gleiche Gesetzmäßigkeit, die auch für die Anzahl der entstehenden Sporen gilt. Wir haben also im Askus eine höhere Form des Sporangiums. Der Austritt der Sporen erfolgt nicht durch ein einfaches Platzen der Membran, sondern ist meist an die Spitze des schlauchförmigen oder zylindrischen Askus verlegt, an der eine Aufweichung und Lösung der Haut erfolgt. Man vereinigt nun diejenigen Pilze, die solche höher ausgebildete Sporangien aufweisen, zur Klasse der Askomyzeten oder Schlauchpilze.

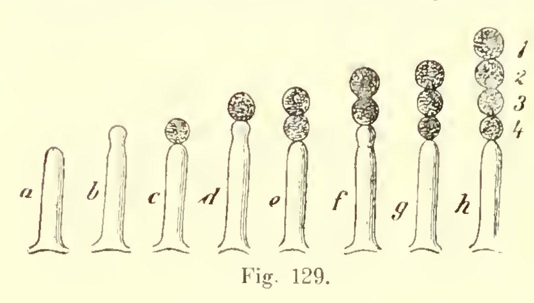


Fig. 129.

Eine noch höhere Ausbildung erlangt der Askus durch Zusammentreten mehrerer Aszi zu einem Schlauchlager.

Die **exogene Sporenbildung** ist nun dadurch gekennzeichnet, daß die Spore außerhalb der Zellen durch Abschnürung entsteht. Man bezeichnet so gebildete Sporen als Konidien und die Zelle, von der sie abgeschnürt werden, als Konidienträger oder kurzweg Träger. Die Konidien leiten sich aber in morphologischer Hinsicht ihrer Entstehung von dem Sporangium ab.

Die Bildung der Konidien verläuft nun in verschiedener Weise und folgt dabei drei Grundtypen, die wir kurz betrachten wollen.

Der erste Typus ist im Schema nach Zopf in der Fig. 129 wiedergegeben. *a* zeigt uns den Träger, der an seiner Spitze eine Ausstülpung bekommt, die durch eine Querwand abgeschnürt wird, wie es *b* und *c* der Figur zeigt. So ist die erste Konidie entstanden. Der Träger verlängert sich nun um ein Stück von der Länge der ersten Konidie und schnürt die zweite Spore ab, entsprechend *d* und *e* der Figur. Dieser Prozeß wiederholt sich noch öfter, wodurch eine Kette von Konidien entsteht, wie es *f*, *g* und *h* der Fig. 129 erkennen läßt. Von den gebildeten Konidien ist also die oberste (*1*) die älteste und die an den Träger grenzende (*4*) die jüngste. Die zeitliche Abfolge der Entwicklung ist also von der Spitze gegen die Basis des Trägers gerichtet, die Entstehung also basipetal, wobei sich die Länge des Trägers nicht ändert. Wir finden diese Konidienbildung bei den bekannten Schimmelpilzen Aspergillus und Penicillium.

Der zweite Typus der Konidienbildung ist dadurch gekennzeichnet, daß der Träger bei der Ausbildung der Spore sein Längenwachstum gänzlich einstellt. In Fig. 130 ist der Vorgang nach Zopf schematisch dargestellt. Den erwachsenen Träger zeigt uns *a*. In *b* sehen wir an der Spitze die Ausstülpung, die nach ihrer Abschnürung zur Spore wird (*b* und *c*). Nun schnürt die Konidie selbst eine zweite Konidie ab, die wieder eine dritte treibt usf., entsprechend *d* bis *h* der Fig. 130. Hier ist die am Träger befindliche Konidie die älteste (*1*) und die äußerste die jüngste (*5*). Die Konidienfolge ist in diesem Falle also basifugal oder akropetal.

Der ziemlich seltene, dritte Typus der Konidienentwicklung ist dadurch charakterisiert, daß eine Verkürzung des Trägers im Verlaufe der Abschnürung der Konidien eintritt. Es wird einfach für jede Spore von der Spitze zur Basis ein Stück des Trägers durch eine Querwand abgeschnürt, wodurch Ketten von Konidien zustande kommen.

Die **Keimung** der reifen Sporen verläuft im allgemeinen ziemlich gleich. Bei dünner, einfacher Haut derselben bildet sich eine Ausstülpung, die zum Keimschlauch wird. Bei doppeltbehäuteten Sporen tritt der Keimschlauch entweder nach Zerreißung des Exosporiums wie bei den einfach behäuteten Formen aus oder aber durch vorgebildete Öffnungen des Exosporiums. Aus der Spore bildet sich über den Keimschlauch das Myzel. Bei der Zygospore bildet der Keimschlauch dann sofort einen Fruchtträger aus, wenn dieselbe sich frei an der Luft befindet. Unter Flüssigkeiten bildet sie aber den Ausgangspunkt für ein Myzel.

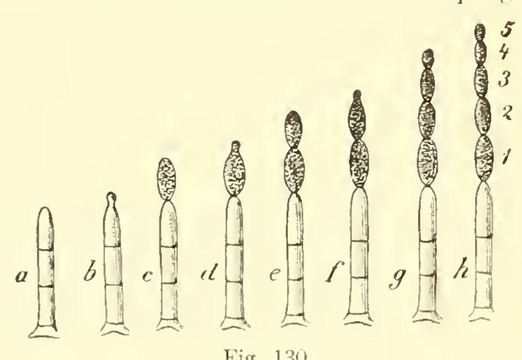


Fig. 130.

Die Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknen ist bei den Sporen der einzelnen Arten außerordentlich verschieden und erstreckt sich von wenigen Monaten bis auf viele Jahre. Auch in bezug auf die Resistenz gegen Erwärmungen zeigen sich größere Verschiedenheiten. Es gilt auch hier die Regel, daß in trockenem Zustande bedeutend höhere Hitzegrade ertragen werden als in feuchtem Zustande. Im allgemeinen wird in letzterem Falle eine Erhitzung auf 100° nicht lebensfähig überdauert. Niedrigen Temperaturen gegenüber erweisen sich die Pilzsporen als sehr widerstandsfähig.

Nachdem wir uns in groben Umrissen über die Morphologie der Schimmelpilze orientiert haben, wollen wir uns mit einigen besonders verbreiteten und wichtigen Arten ein wenig näher beschäftigen. Zunächst sei auf **Aspergillusarten** hingewiesen.

Technisch wichtig ist der Aspergillus Oryzae Cohn, mit dem man in Japan den Reiswein (Sakè) bereitet und Soja-Sauce und Miso herstellt. Wir verdanken Wehmer eine eingehende morphologische Untersuchung dieses Pilzes, von dem auch die die Entwicklungsformen

dieses Pilzes wiedergebende Fig. 131 stammt. Aspergillus Oryzae bildet mäßige, meist gelblichgrüne, seltener gelbe Schimmeldecken aus, von denen sich dichtstehend die bis zu 2 mm langen Konidienträger erheben. Alte Decken zeigen eine braune Verfärbung. Am Träger sitzt eine keulenförmige bis kugelige Blase, die aus einer Anschwellung desselben hervorgeht, wie es *3—5* der genannten Figur zeigt, wo in *4* und *5* auch schon die Sterigmenausstülpungen zu sehen sind. Die meist radiär gestellten bei kleineren Trägern aber mehr auf die Kuppe konzentrierten Sterigmen schnüren die 6—7 μ dicken, glatten, kugeligen und gelbgrünen Konidien in Ketten ab, die alsbald zerfallen. *1* der Fig. 131 zeigt uns einen mit Konidien reichlich beladenen Träger, *1a* den kräftigen Stiel. *2* gibt im optischen Schnitt den Konidienträger mit der Blase und den ausgestülpten Sterigmen wieder; von letzteren gibt uns *6* ein Bild, wo bereits eine halbfertige Konidie vom Sterigma in Abschnürung begriffen ist. *7* zeigt einen Konidienrasen bei schwacher Vergrößerung und *8* die Konidien selbst, aber bei 900facher Vergrößerung.

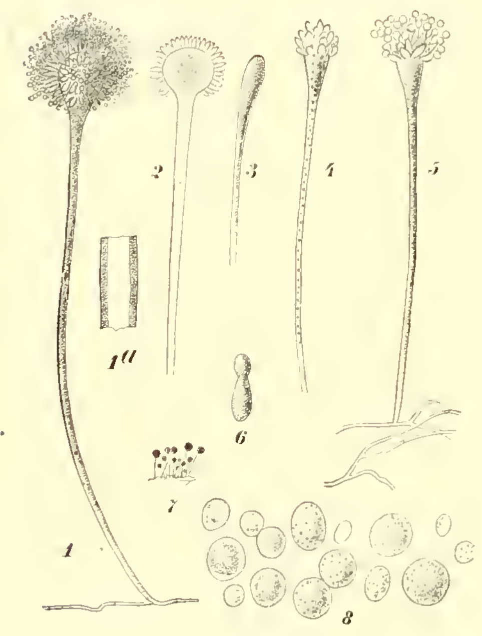


Fig. 131.

Aspergillus Oryzae ist sehr reich an Amylase, weshalb er sehr kräftig Stärke verzuckert. Aber auch viele andere Kohlehydrate und Glykoside spaltende Enzyme enthält dieser Aspergillus reichlich, wie alle anderen Aspergillaceen, bei deren Tätigkeit auch Säure produziert wird. Wenn auch für diesen Pilz eine sogar kräftige alkoholische Gärung einmal angegeben wird, so scheint ihm doch eine nennenswerte Gärkraft nicht inne zu wohnen. Das Gleiche gilt für die übrigen Aspergillaceen, mit Ausnahme der Allescheria Gayoni.

Ein Kosmopolit im vollen Sinne des Wortes ist der Aspergillus glaucus Link. Dieser Schimmel siedelt sich überall auf Brot, trockenen Pflanzen, überhaupt Vegetabilien, Leder u. dergl. an. Die jungen mit Konidien besäten Rasen sind hellgrün, dunkeln aber bald nach und werden dann schmutzig-graugrün bis graubraun verfärbt. Im Myzel sondert der Pilz hellgelbe Farbstoffbröckelchen aus, die sich auch alsbald ins schmutzigrostbraune verfärben. Mitunter findet man Pilzrasen, die ausschließlich goldgelbe Perithecien tragen, was man häufig an Decken beobachtet, die sich auf Kompotten, wie eingemachten Preißelbeeren usw., ausbilden. Unter Perithecien verstehen wir dem Myzel aufliegende kugelige Früchte mit einer außen besonders differenzierten Wand und einem inneren Hohlraum, in dem die Schläuche entstehen. Unsere Figur 132 zeigt uns nach de Bary und Wehmer Entwicklungsstadien des grünen Schimmels In *5* dieser Figur sehen wir ein Myzelstück, auf dem reichlich Perithecien

liegen, während ein Konidienträger sich erhebt. *7* zeigt uns die Entwicklung der Frucht und den Querschnitt eines mit jungen Schläuchen (*as*) und Entwicklungsstadien von Aszi gefüllten Peritheciums, während *8* isolierte Aszi mit den innen befindlichen Sporen und *9* die freien Sporen im Ruhezustand und bei *c* während der Keimung wiedergibt. Die Konidienträger sind derb und schon mit freiem Auge sichtbar, wie die in natürlicher Größe wiedergegebene Zeichnung *6* der Figur 132 erkennen läßt, in der auch Perithecien (*p*) zu sehen sind. Auf einer vom Stiel nicht scharf abgesetzten Blase befinden sich an der ganzen Oberfläche die unverzweigten, radiär angeordneten Sterigmen, von denen sich die großen, mit feinen Stacheln besetzten Konidien abschnüren. *1* und *2* zeigen die Konidienträger, *3* Sterigmen und *4* endlich die Konidien selbst.

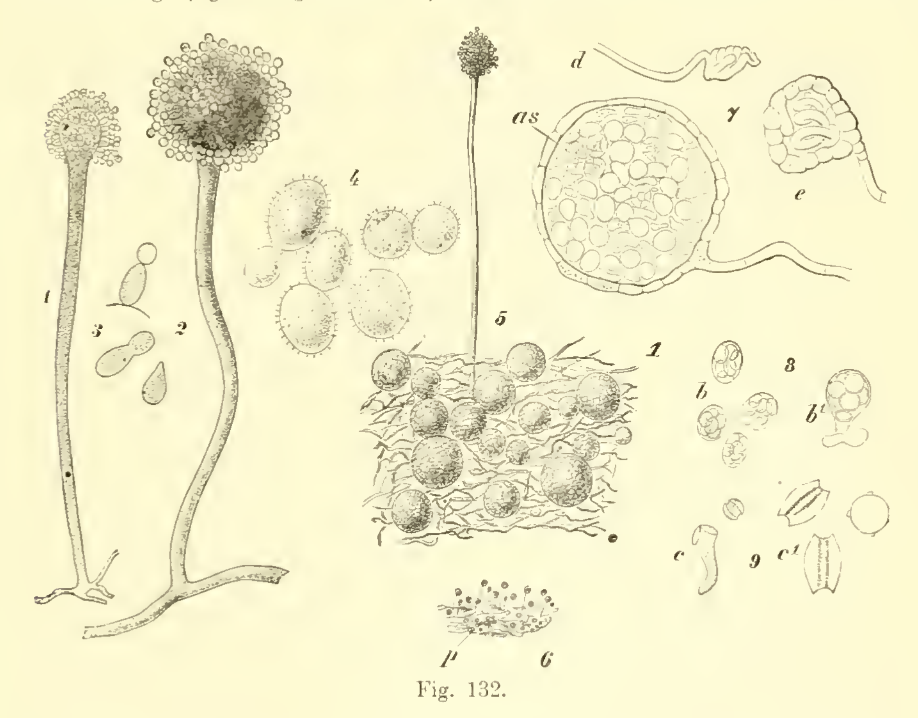


Fig. 132.

Aspergillus glaucus bevorzugt im allgemeinen wasserärmere, aber höhere Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen enthaltende Nährsubstrate und gedeiht am besten bei niederen Temperaturen von 15—18° C.

Ein anderer ebenfalls außerordentlich häufiger Schimmelpilz ist das **Penicillium glaucum,** der grüne Pinselschimmel. Seine Entwicklungszustände sind in Figur 133 nach Brefeld wiedergegeben. Er bildet heller oder dunkler grüne, im Alter sich verfärbende Pilzrasen, die ein faseriges Gefüge sofort erkennen lassen. Die Verzweigung der Konidienträger ist sehr variabel. Die Tragzellen der im Maximum die Zahl 12 erreichenden Sterigmen sind immer merklich länger als letztere. *a* und a^1 der Figur 133 zeigt uns die verzweigten Konidienträger mit den Tragzellen und Sterigmen, von denen die kugeligen und glatten, ca. 2,5 μ dicken Konidien in Ketten abgeschnürt werden. Ab und zu kommt es

im Myzel zur Ausbildung etwa sandkorngroßer, harter Sklerotien, in denen nach einer Ruhepause das zentrale Gewebe im Innern eingeschmolzen und Aszi gebildet werden. Unter Sklerotien versteht man im allgemeinen harte, knollige Gebilde, die aus dichtgedrängten Zellen bestehen, die ein paraplektenchymatisches Gewebe formieren. Dazu sei bemerkt, daß man unter Plektenchym überhaupt aus fädigen Elementen aufgebaute Gewebe versteht. Beim Paraplektenchym sind die es zusammensetzenden Hyphen dicht gefügt und reichlich septiert. *b* unserer Figur 133 zeigt ein in Askusbildung begriffenes Sklerotium. Die Aszi sind hier kugelig bis elliptisch und zerfallen nach Ausbildung der gelblichen ellipsoidischen Sporen. In *c* der Figur 133 sehen wir freigemachte, in Sporenbildung begriffene Aszi, während *d* die Sporen selbst in Seitenansicht wiedergibt. An ihnen sieht man eine Längsfurche und drei bis vier darauf quer verlaufende Leisten.

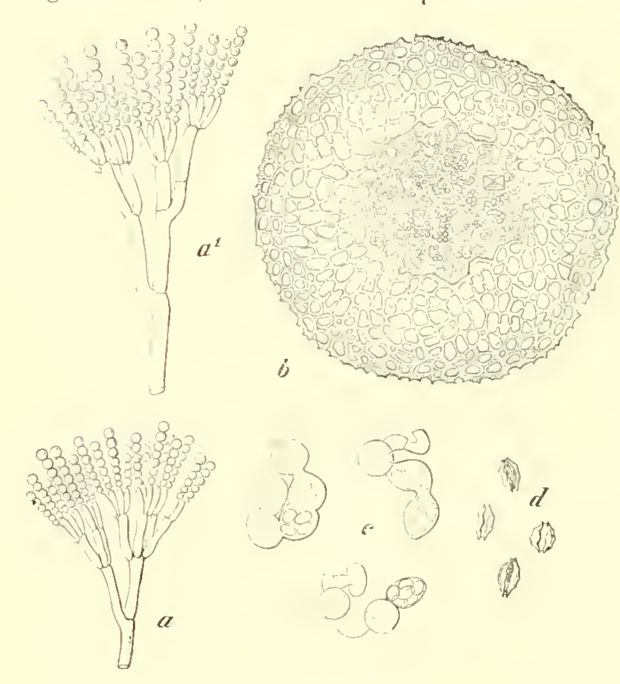


Fig. 133.

Der grüne Pinselschimmel ist überall leicht zu finden. In der Luft, im Boden, am Getreide usw. sind seine Konidien, die selbst bei sehr wenig Nahrung zur Bildung ausgebreiteter Schimmelvegetationen Veranlassung geben. Allbekannt ist ja der durch diesen Pilz hervorgerufene schimmelige Geschmack und Geruch.

Auch der Pinselschimmel bevorzugt niedere Temperaturen um 20° C. Er ist im allgemeinen ein Säurezehrer, was ganz besonders für Apfelsäure, Weinsäure und Zitronensäure gilt. Mitunter findet allerdings nur eine Neutralisation derselben durch das von ihm gebildete Ammoniak statt. Er produziert neben zahlreichen anderen Enzymen auch reichlich proteolytische Enzyme und vermag dementsprechend Polypeptide und Eiweißkörper tief zu spalten, wobei viel Ammoniak entsteht.

Besondere Penicilliumarten finden daher auch in der Käserei zur Reifung bestimmter Käsesorten unmittelbar Verwendung. So besorgt das Penicillium Roquefort, das bläulichgrüne Konidien ausbildet, im Roquefortkäse einen Abbau von Kasein unter Bildung ganz bestimmt schmeckender Verbindungen und gibt die grüne Marmorierung des Innern.

Als für den Camembertkäse typischer Reifungspilz ist hier das Penicillium Camembert zu nennen.

Erwähnenswert ist auch das Penicillium brevicaule Saccardo, mit dem Spuren von Arsen in Nährsubstraten nachgewiesen werden können, da dieser Pilz Diäthylarsin bildet, das sich noch in den kleinsten Mengen durch seinen intensiven Geruch verrät.

Außerdem wurde noch eine Reihe anderer Penicilliumarten mehr oder minder genau untersucht und bekannt, auf die einzugehen zu weit führen würde.

Die Gattung **Cytromyces** Wehmer umfaßt nur wenige Formen, die sich sowohl von Penicillium als auch von Aspergillus gut unterscheiden. Allen kommt ein großes Säuerungsvermögen zu. Der meist nicht septierte, nicht verzweigte schlanke Konidienträger trägt eine keulenartige Blase, an der die nach oben zusammenstrebenden Sterigmen wirtel- oder büschelartig sitzen, wie es in Figur 134 bei *b—d* und *f* gut zu sehen ist. Die Abbildung ist von Wehmer und stellt Entwicklungsperioden des Cytromyces Pfefferianus Wehmer dar. An den Spitzen der Sterigmen werden die kugeligen, grünen Konidien in Ketten abgeschnürt.



Fig. 134.

Man findet den Cytromyces Pfefferianus auf alten Schwämmen im freien und dann auf Zitronensaft, sauren Konservenfrüchten und auch auf frischen sauren Früchten und Zuckerlösungen, wo er grüne, im Alter sich mehr bräunlich verfärbende Überzüge erzeugt. In *a* der Figur 134 sehen wir einen mit Konidien strotzend bedeckten Konidienträger, während uns *g* Hyphenteile vor Augen führt, die sich in kalkhaltiger Nährflüssigkeit gebildet haben und von körnig abgelagerten Kalziumzitrat überstreut oder mit daraus entstandenen Sphäriten bedeckt sind. Vollständige Einhüllungen kommen ebenfalls vor. *h* gibt uns die Konidienkeimung und reife Konidien wieder.

Von Interesse ist die durch Cytromycesarten hervorgerufene **Zitronensäuregärung**, worunter wir die Bildung und Abscheidung freier Zitronensäure aus Zucker zu verstehen haben. Man erhält bis zur Hälfte des verwendeten Zuckers Zitronensäure, wenn man durch Festlegung derselben als Kalksalz sie vor weiterem Abbau schützt. Es handelt sich

bei der Zitronensäuregärung um einen Oxydationsvorgang, weshalb der Prozeß auch nur unter freiem Zutritt der Luft vor sich geht und nur unter diesen Umständen Cytromyces überhaupt zur Entwicklung gelangt. Die Zitronensäuregärung greift am Dextrosemolekül an. Aber nicht eine glatte Oxydation findet bei der Überführung der Dextrose in Zitronensäure statt, sondern es kommt gleichzeitig zur Sprengung der Kohlenstoffkette des Zuckermoleküles, worauf ein Kohlenstoffatom in seitliche Verbindung rückt, entsprechend der Konstitution der Zitronensäure, wie aus folgender Anschreibung hervorgeht:

Dextrose	Zitronensäure
COH	COOH
CH · OH	CH_2
CH · OH	COH · COOH
CH · OH	CH_2
CH · OH	COOH
CH_2OH	

Die oxydative Zerlegung erfolgt unter Aufnahme von freiem Sauerstoff und Bildung von Wasser entsprechend der Formel:

$$C_6H_{12}O_6 + 3O = C_6H_8O_7 + 2H_2O$$

Dextrose Zitronensäure

Die Zitronensäuregärung hat eine Bedeutung für die Gewinnung dieser Säure im Fabriksbetrieb und wird tatsächlich auch technisch verwertet. Die Ausbeute ist wie die Reinheit des Produktes eine gute und rentable, wenn auch das Verfahren nicht gerade einfach ist. Außerdem ist die Infektionsgefahr nicht zu unterschätzen, die den Betrieb ständig bedroht. Mit einer Variabilität des Gärvermögens der Erreger muß natürlich ebenfalls gerechnet werden.

Von den Zygomyceten kommt für die Gärungsbetriebe nur die Familie der **Mucoraceen** in Frage, die zu den Mucorineen gehören. Alle Vertreter der Mucorineen bilden ein einfaches Sporangium auf einer Columella, welche Einrichtung wir früher bereits kennen gelernt haben. Außerdem kommt es mehr oder minder häufig zur Ausbildung von Zygosporen.

Die **Gattung Mucor** besitzt einen einfachen oder verzweigten Sporenträger mit einem Endsporangium. Die Sporangienwand ist sehr brüchig und zerfließlich, was sich besonders bei jungen Sporangien bemerkbar macht. Das Sporangium ist kugelförmig und besitzt eine mehr oder weniger durchsichtige Wand von heller Farbe und ist aufrecht gestellt. Die Sporangiumwand zeigt feine Nadeln, die oxalsaurer Kalk sein sollen. Der Träger besitzt stets eine weißgrüne Farbe und ist niemals gegabelt oder wirtelförmig verzweigt. Im Sporangium finden sich sehr zahlreiche Sporen von abgerundeter Gestalt. Ihre Oberfläche ist meist glatt, höchstens mit feinen Stacheln versehen. Das Myzel besitzt in der Regel farblose Wände, während im Plasma häufig gelbe bis gelbrote in Fettropfen gelöste Pigmente zu beobachten sind.

Die Zygosporen und ihre Bildung haben wir schon kennen gelernt.

Außer den genannten Vermehrungszellen treten bei zahlreichen Arten der Gattung Mucor noch zellige Bildungen auf, die man als Chlamydosporen und Kugelzellen bezeichnet.

Die Chlamydosporen (Gemmen) entstehen innerhalb des Pilzkörpers oder Thallus und sind mit derber Wand bekleidete Ruheformen, aus denen sich wieder neue Myzelien unter günstigen Umständen entwickeln können. Sie bilden sich innerhalb von Hyphen, indem sich an einer Stelle der Protoplast zusammenzieht und neu behäutet. Ganze Ketten solcher Chlamydosporen findet man in der sonst fast leeren Hyphe.

Die Kugelzellen, auch Reihengemmen oder Oidien genannt, werden in der Weise gebildet, daß Hyphenabschnitte durch zahlreiche Querwände in kleine Abschnitte geteilt werden, die sich abrunden und dann allseits vergrößern. Sie verbleiben längere oder kürzere Zeit hindurch im Verbande. Die als abnormale Bildungen aufzufassenden Kugelzellen keimen sofort wieder aus, bilden Hyphen und tragen schon deshalb das Merkmal einer vegetativen Zelle und nicht einer Dauerform. Noch mehr tritt dies bei den sogenannten Kugelhefen hervor. Dieselben sind nichts anderes als Kugelzellen, die Sprossung aufweisen. Deshalb haben diese Kugelhefen, auch Mucorhefen bezeichnet, mit den echten Saccharomyzeten gar nichts zu tun und stehen auch in keinem Zusammenhang mit einer etwa auftretenden alkoholischen Gärung.

Mucor mucedo

ist eine weit verbreitete und besonders auf Pferdemist und anderen vegetabilischen und tierischen Substanzen sich ansiedelnde Kopfschimmelart. Er bildet ausgebreitete Schimmelvegetationen von grauweißer Farbe. Eine technische Bedeutung kommt ihm allerdings nicht zu, doch siedelt er sich in Molkereibetrieben, Gerbereien und an anderen Betrieben mit Vorliebe an und greift mitunter störend ein. Als kräftiger Eiweißspalter und auch Fettzersetzer verdirbt er häufig die Molkereiprodukte.

Sein Gärvermögen ist wohl sehr gering, denn im besten Falle wird etwa 1 % Alkohol gebildet.

Von den vielen anderen bekannt gewordenen Mucorarten sei hier noch erwähnt der

Mucor Rouxianus Wehmer.

Derselbe wird auch Mucor Rouxii genannt. Er besitzt niedere, oft sympodial verzweigte Sporangienträger, welche wir in *1—5* der Figur 135 nach Wehmer, Vuillement und Calmette abgebildet sehen. Sie sind sehr zart. Oft werden nur feine, sterile Decken von orangegelber oder goldgelber Farbe ausgebildet, die besonders auf gekochtem Reis entstehen. Die Sporangien sind entweder farblos oder dunkel gefärbt, in welchem Falle die Färbung aber auf die gefärbte Sporenmembran zurückzuführen ist. Die glatten und dünnwandigen Sporen besitzen eine elliptische Gestalt, wie es aus *6* der Figur 135 zu entnehmen ist. Chlamydosporenbildung kommt ebenfalls häufig vor, ebenso die Erzeugung von Kugelzellen, die entweder neue Keimschläuche treiben oder als Kugelhefe Sprossung zeigen. In unserer Figur 135 finden wir in *7—9* und *11* Chlamydosporenbildungen abgebildet, während *10* verschiedene Sproßstadien der Kugelzellen und Keimschlauchbildungen derselben vor Augen führt.

Dieser Mucor verzuckert Stärke und vergärt dann den entstandenen Zucker. Saccharose vermag er aber nicht zu vergären.

Der Pilz stammt von der „chinesischen Hefe", die aus kleinen rundlichen, von Pilzmassen durchwucherten Reismehlmassen besteht, und wurde aus ihr von Calmette reingezüchtet. Er wächst zwar auch bei



Fig. 135.

Zimmertemperatur ganz gut, hat aber sein Temperaturoptimum etwas über 30° C.

Mucor racemosus

besitzt häufig traubig verzweigte Sporangienträger und bildet sehr hohe Schimmelvegetationen von grauer Farbe auf Früchten, Malz, Würze, Brot u. dergl. In den kleinen Sporangien werden elliptische Sporen ausgebildet. Chlamydosporen sind häufig. Ebenso Kugel-

zellen bzw. Kugelhefen, die besonders beim Wachstum in Maischen und Würzen auftreten. Mucor racemosus invertiert Rohrzucker und bildet in zuckerhaltigen Nährsubstraten kräftig Alkohol, dessen Menge 2—7 Vol.-Proz. beträgt. Die Alkoholbildung tritt aber nur dann nennenswert ein, wenn sich auf dem betreffenden Substrat eine Decke ausgebildet hat. Dieser Pilz hat ein nicht sehr hohes Temperaturoptimum für das Wachstum, das bei etwa 20—25° C liegt.

Rhizopus nigricans Ehrenberg.

Er erzeugt Ausläufer, Stolonen, die wurzelähnliche Gebilde dort treiben, wo sie mit festeren Unterlagen in Berührung kommen. Mit den Stolonen vermag der Pilz auch an Glaswänden emporzuklettern. Die Hyphen und Sporangien sind in der Jugend weiß und verfärben sich später dunkel. Die hohen, steifen Sporangienträger sind entweder unverzweigt oder verzweigt. Die Sporen sind unregelmäßig geformt und besitzen eine dunkelgrüne Farbe. Das Exospor derselben weist feine Faltenbildungen auf. Chlamydosporen- und Kugelzellenbildung konnte bisher nicht beobachtet werden. Wohl aber tritt ab und zu Zygosporenbildung auf. Rhizopus nigricans erzeugt zahlreiche Enzyme, mit denen er Eiweißkörper und Kohlehydrate anzugreifen vermag. Sein Gärvermögen ist nicht groß, denn er erzeugt höchstens 1 Vol.-Proz. Alkohol. Neben den Enzymen erzeugt er noch ein hitzebeständiges Gift, mit dessen Hilfe er Eiweißzellen zu vernichten vermag und so sein Eindringen erleichtert. Man findet ihn oft in und auf reifen Früchten und Beeren, so daß er mitunter sehr schädlich werden kann. Er besiedelt außerdem mit Vorliebe Reis, Malz, Mehl und Brot.

Zum Schlusse sei noch der **Rhizopus japonicus** kurz beschrieben, der aus dem japanischen Koji stammt (vgl. S. 387). Die hohen Pilzrasen besitzen eine braunschwarze Farbe. Die Hyphen sind oft durch keulenartige und blasige Anschwellungen und Auftreibungen vielfach verunstaltet. Chlamydosporen werden beobachtet, während eine Kugelzellenbildung zu fehlen scheint. In den auf etwa 1 mm hohen Trägern ausgebildeten Sporangien entstehen die großen und oberflächlich gefältelten Sporen.

Dieser Pilz ist sehr reich an Amylase und wird deshalb auch technisch in „Amyloverfahren“ verwertet. Er vergärt außer Rohrzucker noch Melibiose, Raffinose und Inulin und erzeugt im Maximum ungefähr 5 Vol.-Proz. Alkohol. Rhizopus japonicus hat ein sehr hohes Temperaturoptimum, das um 37° C liegt.

Literatur zur Vorlesung XXXI.

Lindau, G., Allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Eumyceten. Lafar's Handb. d techn. Mykologie, Bd. I, S. 150.

Jörgensen, A., Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. Berlin 1909.

Wehmer, C., Morphologie und Systematik der Familie der Aspergillaceen. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. IV, S. 192.

Ders., Chemische Wirkungen der Aspergillaceen, ebendort, Bd IV, S. 239.

Ders., Mucoraceengärungen, ebendort, Bd. IV, S. 455.

Die Textfiguren dieser Vorlesung stammen aus dem Handbuche der technischen Mykologie von Lafar.

ZWEIUNDDREISSIGSTE VORLESUNG.

Selbstreinigung von Gewässern und Abwasser-Mykologie.

Ohne auf die geschichtliche Entwicklung und wissenschaftliche Begründung der Selbstreinigung von Flüssen und offenen Gewässern überhaupt einzugehen, sei die Tatsache hervorgehoben, daß in der freien Natur ohne jedes Zutun, besonders in der wärmeren Jahreszeit, selbst in größeren Mengen in das Wasser eingebrachte Schmutzstoffe organischer und zum Teil auch anorganischer Natur alsbald sich verändern und schließlich mehr oder minder vollständig verschwinden. Wenn man das Fluß-, See- oder Teichwasser auf seinen Gehalt an mikroskopischen und makroskopischen Organismen untersucht, so findet man erhebliche Unterschiede, die einerseits von der natürlichen Reinheit des Wassers und andererseits von der Menge der eingebrachten Schmutz- und Sinkstoffe in erster Linie abhängen und weiter durch die Schnelligkeit und Wassermenge eines Flusses ebenfalls beeinflußt werden. Größere Mengen grober, in großen Brocken eingebrachter Nahrungsstoffe und Abfälle, wie sie aus Schlachthäusern, Küchen, Gerbereien usw. kommen, werden in erster Linie von Fischen und anderen höheren Organismen verarbeitet, während die gelösten Nahrungsstoffe Kleinlebewesen, Pilzen und Bakterien, zur Nahrung dienen. Das gleiche gilt für die Exkremente der Land- und Wassertiere. Selbst große Verdünnungen genügen noch, um die Pilzflora in reichlichem Maße aufkommen zu lassen. Wir können aber im allgemeinen sagen, daß mit der Zunahme der Verunreinigungen organischer Natur immer auch ein Ansteigen der Pilzmenge im Wasser zu beobachten ist. Wir haben schon die abbauende Tätigkeit der Bakterien und auch höheren Pilze kennen gelernt. Mit Hilfe ihrer Enzyme spalten sie alle gelösten organischen Verbindungen und greifen in hohem Maße auch ungelöste an. Die Menge der zersetzten Substanz übertrifft meist sehr erheblich diejenige der daraus aufgebauten Pilzsubstanz. Der Abbau der Eiweißstoffe und der Kohlehydrate erfolgt meist sehr tief, bis zu Wasser-, gasförmigen und flüchtigen Produkten, wie Kohlensäure, Wasserstoff, Methan, Schwefelwasserstoff, Ammoniak usw. Letztere Verbindungen verschwinden aber alsbald aus dem Wasser. Bei einer nicht zu starken Konzentration der organischen Schmutzstoffe im Wasser verläuft dieser Prozeß des völligen oder teilweisen Abbaues der gelösten und auch sich am Boden ansammelnden Sinkstoffe ziemlich rasch und ohne erhebliche oder überhaupt merkbare Anhäufung der gebildeten Abbauprodukte. Wir haben dabei ein gleich-

zeitiges Auftreten von Gärungen, Fäulnis- und Verwesungsvorgängen vor uns, das allerdings bei gehäufter Menge von organischer Substanz und ständiger Zufuhr großer Mengen auch die Freimachung enormer Mengen von Abbauprodukten bedingt, wodurch eine erhebliche Beeinträchtigung und Verunreinigung der Luft in der Umgebung solcher Schmutzwässer hervorgerufen wird. Noch mehr tritt dies natürlich in mit Abfallstoffen überladenen, stagnierenden Gewässern, wie Teichen, in Erscheinung. Aber nicht nur die Pilzflora ist am Reinigungswerk des Wassers beteiligt, sondern auch Algen und höhere Wasserpflanzen, die unter Tags das Wasser mit Sauerstoff reichlich versorgen und zum Auftreten ausgiebiger Oxydationen damit Veranlassung geben.

Man kann nun die ins Wasser normalerweise gelangenden Schmutz- und Abfallstoffe in vier Gruppen einteilen, entsprechend ihrer Beeinflussung der Organismenwelt des Wassers.

Die erste Gruppe umfaßt alle jene gelösten oder in feinster Form im Wasser verteilten Substanzen, die für die Organismenernährung in Frage kommen. Hier sind vor allem die Schlachthausabfälle usw. zu nennen, also Eiweißkörper und deren komplexe Spaltungsprodukte, Fette, Kohlehydrate, organische Säuren und diejenigen Mineralstoffe, die wir für das Leben der Pilze als unbedingt notwendig erkannt haben.

In der zweiten Gruppe sind diejenigen Abfallstoffe zu vereinigen, deren Lösungen für die Organismen als indifferent anzusehen sind. Dies gilt vornehmlich für Laugen aus Salzbergwerken, in denen bekanntlich die Chloride des Natriums, Kalziums und Magnesiums vorwiegend auftreten. Eine Schädigung der pilzlichen Organismen wird durch sie nicht hervorgerufen, wenn sie auch den Fischbestand mitunter zu gefährden vermögen.

Die dritte Gruppe vereint Abfallstoffe, die für die Organismen Gifte sind. Meist handelt es sich dabei um starke Alkalien oder Säuren. Ätzkalk, Schwefelsäure, Sulfitlauge usw. kommen hier in erster Linie in Betracht.

Die vierte Gruppe umfaßt die als unlösliche Sinkstoffe in das Wasser gelangenden Abfallprodukte. Hier sind vor allem zu nennen die unlöslichen Bestandteile von Dünger und Fäkalien, Abfälle der Zellulosefabriken, Holzfasern. Sie alle verfallen aber auch mehr oder minder schnell der Zersetzung. Nur andere unlösliche Stoffe, wie Ruß, Kohleteilchen usw. bleiben erhalten.

Obwohl bei der Selbstreinigung der freien Gewässer gewiß auch eine Reihe rein chemischer, nicht auf Organismen in letzter Linie zurückgehender Vorgänge beteiligt ist, so kommt doch den verschiedenen Organismen, insonderheit den pilzlichen, die Hauptanteilnahme zu. Aus diesem Grunde kann man auch mit gutem Rechte von einem biologischen Selbstreinigungsprozeß im Wasser oder kurzweg von einer biologischen Selbstreinigung sprechen, die hauptsächlich auf die Tätigkeit niederster und niederer Pflanzen zurückzuführen ist. Die daran beteiligte Flora und auch Mikroorganismenfauna wird natürlich unter den verschiedenen in der Natur herrschenden Bedingungen sich ändern.

Andere Organismen werden sich in reißenden Bächen und wieder andere in ruhigen Teichen und Tümpeln einstellen. Hier wollen wir uns im Rahmen der Mykologie in erster Linie mit den dabei vorherrschenden

pflanzlichen Organismen etwas näher beschäftigen und an einigen Beispielen dieselben erörtern.

Zunächst sehen wir uns die Flora an, die sich in einem ruhig und langsam dahinfließenden nicht zu stark verunreinigten Bache ansiedelt, wenn die Verunreinigungen in die Kategorie der Abfallstoffe der Gruppe I fallen, die unbedingt zum Organismenleben vorhanden sein müssen, einerlei ob noch solche aus Gruppe II und IV dazu kommen. Da es sich um fäulnisfähige Stoffe handelt und im langsam fließenden Wasser besonders an der Oberfläche eine genügende Durchlüftung erfolgt, wird sich eine Pilzdecke ansiedeln, die vorwiegend aus Zellen und Strähnen von Leptomitus lacteus besteht. Der Pilz findet in den gelösten Stoffen eine ausgezeichnete Nahrung und entwickelt sich üppig. Der Pilzkörper desselben besteht aus verzweigten, querwandlosen 16—20 μ dicken Hyphen, die abstandweise eingeschnürt sind, wie es die Fig. 136 nach Kolkwitz erkennen läßt. Wir sehen hier das Endstück einer Hyphe mit seinen durch einen dünnen Kanal verbundenen Gliedern, in denen sich je ein größerer oder kleinerer Zellulinkörper in Kugelform findet. Entweder findet eine Fortpflanzung durch mechanisch abgerissene Fäden statt, die nach dem Seßhaftwerden einen neuen Rasen ausbilden oder durch Schwärmsporen, die nach kurzem Umherschwärmen sich festsetzen und zum Ausgangspunkt einer neuen Pflanze werden.

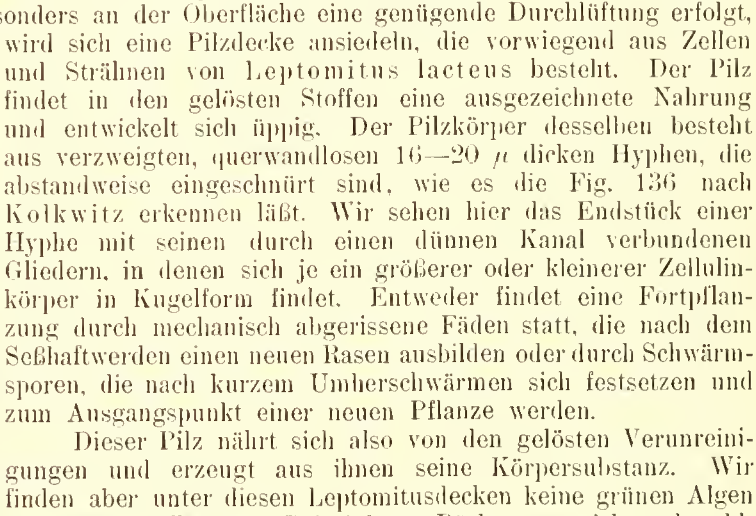


Fig. 136.

Dieser Pilz nährt sich also von den gelösten Verunreinigungen und erzeugt aus ihnen seine Körpersubstanz. Wir finden aber unter diesen Leptomitusdecken keine grünen Algen oder Wasserpflanzen. Bei tieferen Bächen, wo sich auch zahlreiche Sinkstoffe ablagern und Schlammbildungen zu verzeichnen sind, kommen in der Tiefe reichlich Bakterien zur Tätigkeit. Sind aber die Verunreinigungen sehr gering und ist die Stromgeschwindigkeit groß, dann findet der Leptomitus kein Fortkommen mehr und wird das Feld grünen Algen, wie Vaucheria und Cladophora, räumen. Letztere sorgen für eine reiche Sauerstoffentwicklung infolge Belichtung und werden überdies einen Anteil an der Assimilation niederer gelöster Verbindungen haben. Außerdem wird auch in diesem Falle der Bakterienflora ein guter Teil der Reinigung zukommen. Ist der Wasserlauf noch reichlich mit Wasserpflanzen, z. B. Elodea canadensis, der Wasserpest, bewachsen, dann werden sie als Sauerstofflieferanten einerseits fungieren und andererseits zahlreichen Bakterien, Fadenbakterien und Pilzen als Stützpunkt und Ansiedelungsraum dienen. Selbstverständlich siedeln sich in allen diesen Fällen auch kleinste und größere Tiere an, die an der Reinigung noch regen Anteil nehmen. Erst das Zusammenwirken aller dieser Faktoren führt dann zu einer ausgiebigen Abnahme der eingeführten Verunreinigungen.

Von echten Reinigungspilzen sind dann noch zu nennen Sphaerotilus, Cladothrix, Mucorarten und Fusarium, die genauer untersucht sind und zahlreiche andere, die man jetzt noch wenig kennt. Sphärotilus und Cladothrix gehören zu den Fadenbakterien oder Chlamydobacteriaceae (vgl. S. 321). Sphaerotilus findet sich nur in den fließen-

den Gewässern, die noch komplexe, hochzusammengesetzte Stickstoffverbindungen enthalten, nicht aber in faulen Substraten. Cladothrix dichotoma tritt nur in reineren Wässern auf. Von Mucorarten sind bei der Selbstreinigung meist Mucor racemosus und Arten der Zygorhynchusgruppe vertreten. Fusarium ist ebenfalls ein Abwasserpilz, der oft durch seinen moschusartigen Geruch auffällt. Charakteristisch für ihn sind die tafelförmigen Sporen, deren Länge etwa 30 μ mißt und deren Breite ungefähr 4 μ beträgt. Kommt es im Schlamme zu einer stärkeren Schwefelwasserstoffbildung, so siedeln sich auch Schwefelbakterien, insonderheit Beggiatoen in größerer Menge an. Auch an das Auftreten von Purpurin führenden Schwefelbakterien sei hier verwiesen, das allerdings zu den seltenen Befunden zählt. Zur Entwicklung von Schwefelbakterien ist es aber notwendig, daß keine irgendwie stärkere Wasserströmung herrscht.

Die bisher genannten bei der Wasserselbstreinigung tätigen Pilze vertragen stärkere Verunreinigungen schlecht und bevorzugen langsamere oder schnellere Wasserläufe. In kleineren, seichten und stehenden Gewässern, wie Teichen, sind bei der Verarbeitung der organischen Verunreinigung in erster Linie Bakterien tätig und überhaupt Planktonorganismen, die also in der Flüssigkeit schweben. Es sind Grünalgen, Protozoen, Rotatorien und Crustaceen. Den Abbau der eiweißartigen Verbindungen und Kohlehydrate besorgen aber Bakterien, die sich massenhaft entwickeln. Die Flora derselben besteht vorwiegend aus Fäulnisbakterien. In großen stehenden Gewässern spielt auch das Plankton die allergrößte Rolle bei der Selbstreinigung.

Im Schlamme spielen sich eine Reihe von Zersetzungsvorgängen ab, die einerseits eiweißartige Sinkstoffe treffen, andererseits Wandstoffe der Pflanzen, wie Zellulose usw. In ersterem Falle entsteht meist reichliche Schwefelwasserstoffbildung, die wie schon gesagt, eine Ansiedelung von Schwefelbakterien zur Folge hat. Bei der Zellulosegärung (vgl. S. 223) treten die gasförmigen Produkte Wasserstoff und Methan in den Vordergrund.

Wenn wir so kurz die Fülle von Erscheinungen, die hier zutage treten, zusammenfassen, so findet bei der Selbstreinigung des Wassers ein Verbrauch von organischen und anorganischen löslichen Verunreinigungen zum Aufbau zahlreicher pflanzlicher und tierischer Körper statt und überdies noch eine Zersetzung solcher Substanzen, die vielfach bis zu den einfachsten Verbindungen sich vollzieht und so die Reinigung besorgt.

Von einer eingehenderen Besprechung der Selbstreinigung des Wassers von tierpathogenen Bakterien kann abgesehen werden. Dieselbe ist in den meisten Fällen eine sehr unzureichende und unzuverlässige. Die Belichtung kann eine Schädigung von Bakterien nur in den obersten Schichten herbeiführen, da ja dabei in erster, wenn nicht einziger Linie die kurzwelligen Strahlen wirken, die aber größtenteils besonders im verunreinigten Wasser absorbiert werden. Die Abkühlung und der Ernährungsmangel hemmen allerdings parasitische Bakterien im Wasser in ihrer Vermehrung, aber töten sie wohl in den wenigsten Fällen. Am ehesten werden dieselben noch durch die Tätigkeit der Protozoen ausgeschaltet, indem sie sie fressen und verdauen. Auch durch Sedimentieren können pathogene Bakterien ausgeschaltet werden.

sofern es sich um tiefe Gewässer handelt, in denen Schlammaufwirbelungen nicht vorkommen. Sie behalten aber beim Lagern im Schlamm noch lange Zeit ihre Wirkung, sind also infektionstüchtig.

Die bei der Selbstreinigung von freien Gewässern gewonnenen Erfahrungen und Erkenntnisse werden nun auch zur Reinigung von städtischen Abwässern und solchen aus Fabriksbetrieben herangezogen und in dieser Hinsicht für bestimmte Organismen besondere Bedingungen geschafft. Damit wird einer zu tiefgehenden Verunreinigung der freien Gewässer vorgebeugt und andererseits auch das Abwasser für verschiedene Zwecke wieder brauchbar gemacht.

Wie aus den Analysen von städtischen Abwässern hervorgeht, enthalten dieselben Eiweißstoffe, Kohlehydrate, Fette und Salze, alles für Bakterien und Pilze brauchbare Nährstoffe. Außerdem ist die Menge der darin nicht gelösten Bestandteile ziemlich erheblich. Die folgende Zusammenstellung enthält die Analysenergebnisse in Milligrammen pro Liter eines Abwassers von mittlerer Zusammensetzung nach Kolkwitz. Daneben sind noch die Analysenbefunde eines aus einem künstlichen Faulraum und eines bereits biologisch gereinigten Drainwassers zum Vergleich angeschrieben.

Verbindungen	Städtisches Rohwasser	Abfluß aus einem Faulraum	Drainwasser
Suspendierte Stoffe	500—800	ca. 200	fast 0
Fette und Seifen	ca. 150	vorhanden	0
Abdampfrückstand	ca. 1000	ca. 1000	ca. 1000
Permanganatverbrauch	ca. 500	ca. 400	130—200
Organischer Stickstoff	ca. 20	ca. 10—15	ca. 1—9
Ammoniakstickstoff	ca. 70 und mehr	ca. 100	0—20
Salpeter und salpetrige Säure . .	0—3	0	50—150
Schwefelwasserstoff	0 oder Spuren	ca. 15 und mehr	0
Gelöster Sauerstoff	meist 0	meist 0	1—3 ccm
Keime pro Kubikzentimeter . .	3—40 Millionen	2—20 Millionen	30—100 Tausend

Enorm groß ist der Bakteriengehalt des städtischen Rohwassers. Die Mehrzahl der Bakterien sind Fäzesbakterien, Bacillus coli und andere ärobe und anärobe Fäulnisbakterien und Darmbewohner. So kommen vornehmlich Buttersäurebakterien, der weit verbreitete Bacillus subtilis, dann Vertreter der Gruppe Proteus im Wasser vor. Daneben finden sich noch zahlreiche Kugelbakterien und häufig auch Schraubenbakterien. Vielfach wurden auch Schwefelbakterien gefunden. Außerdem sind Schimmelpilze zahlreich vertreten, die sich meist mit ihrer typischen Vegetation an der Grenze von Flüssigkeit und Kanalwand oder Wand überhaupt ansiedeln. Auch Protozoenarten fehlen durchaus nicht.

So verunreinigte Wässer führt man nun der raschen biologischen Reinigung zu, indem man sie entweder über Rieselfelder leitet oder in biologische Füllkörper oder Tropfkörper oder endlich in Faulkammern eintreten läßt.

Die **Rieselfelder** sind große, aus lockerem Boden bestehende Flächen Freilandes, die meist mit Gras bewachsen sind. Das in den Boden eindringende Wasser sammelt sich in den abführenden Drainröhren. In Figur 137 ist ein schematischer Querschnitt durch ein Rieselfeld mit vorgeschaltetem Absitzbecken nach Kolkwitz wiedergegeben. Letzteres

ist nur einige Meter tief und hat an der Wassereinlaufstelle (links in der Zeichnung) ein Eintauchbrett, das ein Aufwirbeln des Schlammes durch das eintretende Wasser verhindert. Der Boden des Beckens ist in der angegebenen Weise geneigt, um eine leichte Reinigung zuzulassen. Die miteingeströmten Sinkstoffe setzten sich sehr bald zu Boden, während sich hinter dem Eintauchbrett eine Decke von leichten Stoffen, wie Fett und durch Gärgase aufgetriebene Schlammteile, ausbildet. Vor dem Auslauf befindet sich ein zweites Eintauchbrett, das den Austritt dieser Deckenstoffe hintanhält. Von da gelangt erst das Abwasser, frei von gröberen Sinkstoffen, auf das eigentliche Rieselfeld, auf dem es sich verteilt, langsam zwischen den Graswurzeln und in den freien Bodenöffnungen durchsickert, um schließlich in die unten befindlichen Drainröhren an ihren Zusammenstößen als gereinigtes Drainwasser einzutreten. Den Effekt der Reinigung kann man aus der früheren Zusammenstellung ohne weiteres entnehmen.

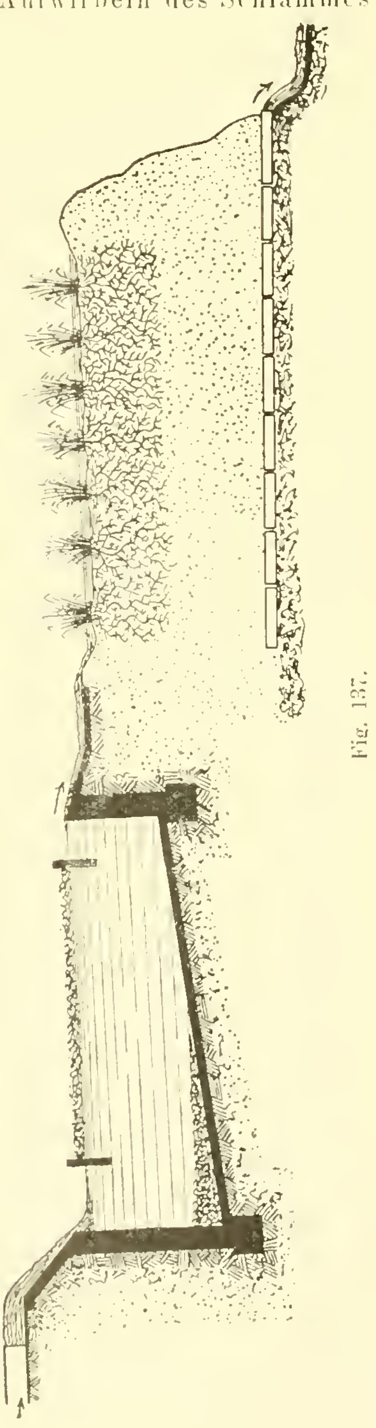


Fig. 137.

Die Graswurzeln nehmen die ihnen zugänglichen, gelösten mineralischen Verbindungen als Nahrung auf. Das Rieselland besorgt eine Filtration, bei der infolge Absorption an der Oberfläche der Bodenteilchen die Reinigung erfolgt. Erst an den absorbierten Schmutzstoffen setzt die Bakterientätigkeit zersetzend und abbauend ein, wodurch die Erde wieder aufnahmsfähig wird. So arbeiten die Mikroorganismen ununterbrochen weiter, solange eine genügende Durchlüftung herrscht. Oft wird dieselbe durch mitausströmendes Fett verringert, indem es die feinen Poren einfach verlegt. Dann stellen sich sofort Störungen im Rieselfeldbetriebe ein.

Der **biologische Füllkörper** ist ein aus Koks oder Schlacke hergestelltes, verkleinertes Rieselfeld. Meist wird in einem Becken eine 1 m hohe Schicht von etwa erbsengroßen Koksstückchen oder Schlackenteilen eingebracht. Der etwas leicht geneigte Boden des Füllkörpers enthält Drainröhren, durch die das gereinigt Wasser abläuft. Hier bringt man gewöhnlich einen Sandfang an, um schwere

Sinkstoffe zurückzuhalten. In Fig. 138 ist im Querschnitt ein biologischer Füllkörper mit vorgelegtem Sandfilter nach Kolkwitz abgebildet. Von links her strömt das Abwasser durch eine tief in den vorgeschalteten

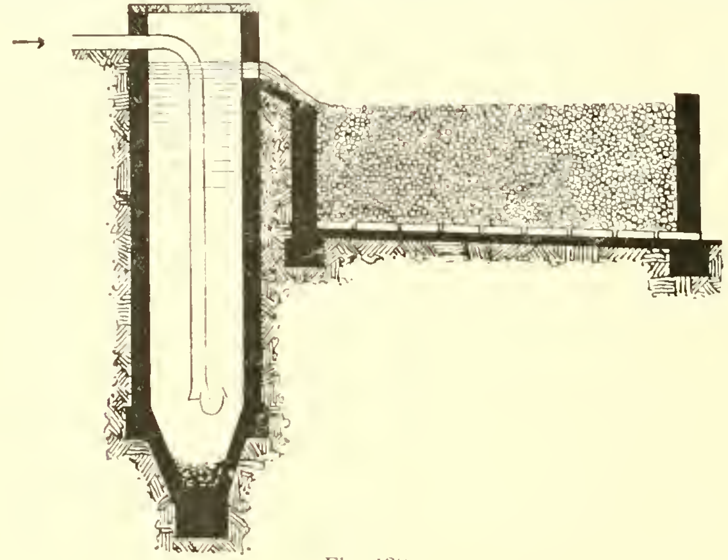


Fig. 138.

Sandfänger reichende Röhre ein und läuft oben in den Füllkörper aus, der rechts wiedergegeben ist. Das auf letzteren laufende Wasser soll möglichst durch ein Rohrsystem über die Oberfläche verteilt werden. Man läßt das Wasser im Füllkörper bis an die Oberfläche reichen und so ca. 2 Stunden stehen. Dann erst wird es durch die unten sichtbaren Drainröhren langsam abgeleitet. Diese Füllkörper arbeiten aber erst dann gut, wenn sich die Oberfläche jedes Koksstückchens mit einer Schlammschicht bedeckt hat. In derselben sind die für die Reinigung aufkommenden Mikroorganismen in größter Zahl angesiedelt. Auch sie reinigen gewiß nicht unmittelbar das Wasser, da dasselbe schon nach 20—30 Minuten sehr rein geworden ist, sondern sie entfernen die adsorbierten und absorbierten Schmutzstoffe durch ihre Gärungen und Zersetzungen. Für die rege Organismenbetätigung spricht auch eine ausgiebige Kohlensäure-

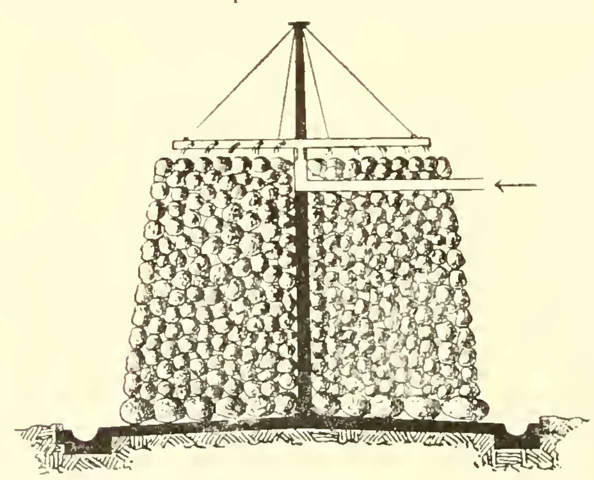


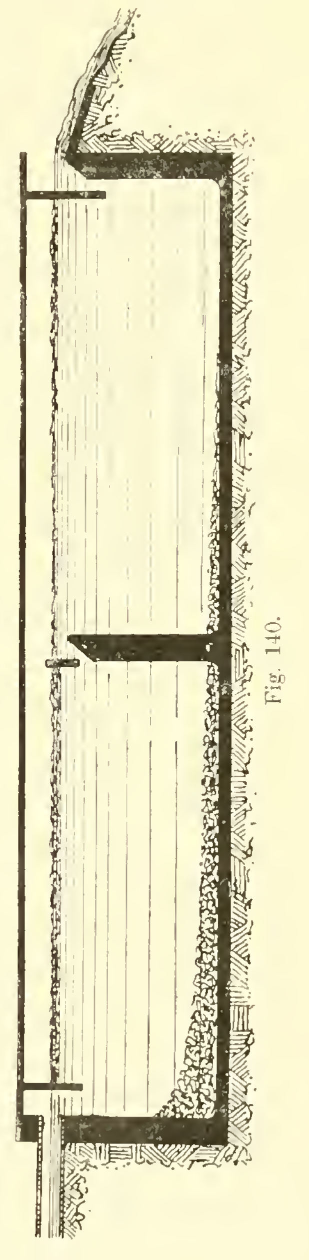
Fig. 139.

abgabe aus den Füllkörpern und ein großer Sauerstoffverbrauch. Auch das Ansteigen der Temperatur in solchen arbeitenden Füllkörpern deutet auf intensive Oxydationsvorgänge in denselben hin.

In den **biologischen Tropfkörpern** werden die Abbau- und Reinigungsprozesse fast noch schneller sich vollziehen, da hier eine reichere Durchlüftung erfolgt. Ein solcher Tropfkörper ist aus etwa 2 m hoch zusammengeschichteten, etwa faustgroßen Koksstücken oder auch noch größeren zusammengestellt. Auf diesen Kokshügel wird das Wasser von oben her aufgetropft, wozu besondere Verteilungsvorrichtungen dienen. Unsere Fig. 139 zeigt einen Tropfkörper im Schnitt nach Kolkwitz. In der Pfeilrichtung strömt das Schmutzwasser in den drehbar eingerichteten Besprenger mit den seitlich gerichteten Ausflußöffnungen. Der Rückstoß der austretenden Wasserstrahlen setzt die Vorrichtung in drehende Bewegung, wodurch ein gleichmäßiges Bespritzen der oberen Fläche des Tropfkörpers herbeigeführt wird. Die Wirkungsweise der Tropfkörper ist im wesentlichen die gleiche wie diejenige der Füllkörper. Ein Unterschied ergibt sich höchsten in der Art der Besiedelung durch Mikroorganismen, indem wahrscheinlich in dem oberen zuerst bespülten Teil sowohl die Keimzahl als auch der Artenreichtum größer sein wird als in den unteren Partien.

Zur Abwasserreinigung benutzt man, wenn auch selten, **Gradierwerke.** Dabei rinnt in schwachem Strome das Schmutzwasser über mehr oder minder hohe Reisigwände, die eine den Tropfkörpern vergleichbare Wirkung haben. Wenn sie zweckmäßig angelegt sind, ergeben auch sie eine hinlänglich genügende Reinigung von Abwasser. Hier sind den bei der Selbstreinigung der Flüsse herrschenden Verhältnisse sehr ähnliche geschaffen, weshalb sich entsprechend dem Gehalte an ernährenden Stickstoffverbindungen auch die früher genannten Pilze, Mucorarten und Sphärotilus natans ansiedeln.

Das **Faulverfahren** zur Reinigung der Abwässer ist dadurch charakterisiert, daß die Spaltung der Eiweißsubstanzen und Kohlehydrate in Faulbecken vorgenommen wird, in die das Rohabwasser eingelassen wird. Gewöhnlich arbeitet man mit wenigstens zwei hintereinander geschlossenen Faulbecken, von denen das erste die Hauptmenge der Sinkstoffe aufnimmt und die größte Deckenbildung von Fett und aufgetriebenen leichten Verunreinigungen unlöslicher Natur aufweist. In unserer Figur 140 sehen wir im Schnitt zwei hintereinander geschlossene Faulbecken nach Kolkwitz abgebildet.


Fig. 140.

In der Pfeilrichtung fließt das Rohwasser ein und trifft dabei auf das erste Eintauchbrett, um jedes Aufwirbeln des Schlammes zu vermeiden. Den Abfluß des ersten Beckens schützt ein zweites Eintauchbrett, damit die Deckenbildungen beim Überströmen des Wassers nicht mitgerissen werden. Hier sammeln sich die Sinkstoffe in größter Menge als Schlamm an, der einer tiefen Zersetzung unterliegt und dabei vergast und verflüssigt werden soll. Die Decke an der Oberfläche besteht aus den Fettsubstanzen, Papier und dergleichen leichten Abfallstoffen, zwischen denen sich zahlreiche Pilzvegetationen ansiedeln, die mit ihrem Hyphengeflecht alles durchziehen und dem Ganzen ein festeres Gefüge geben. Diese Schwimmdecken erreichen oft eine sehr große Dicke, die mehrere Dezimeter betragen kann. In das zweite Faulbecken kommt das von seinem ungelösten Bestandteilen zum größten Teil befreite und nunmehr schon etwas reiner gewordene Wasser. Hier wird nur eine unbedeutende Schwimmdecke ausgebildet und der entstehende Bodensatz ist auch ziemlich gering gegenüber den Schlammmassen im ersten Becken. Das Wasser bleibt nun 12 bis 24 Stunden in den Faulbecken. Es genügt aber auch, wenn es langsam durchströmt, vorausgesetzt, daß es nicht überreich mit fäulnisfähigem Stoffen beladen ist. Die Ergebnisse mit diesen Faulkammern sind aber nicht gerade glänzend, denn durch die herrschenden Fäulnisprozesse können nur verhältnismäßig geringe Mengen, die sich in großer Verdünnung befinden, verarbeitet werden. Das gleiche gilt für den angesammelten Schlamm, der nur dann tatsächlich durch die mikrobielle Tätigkeit gänzlich zersetzt werden könnte, wenn sehr verdünnte Abwässer zur Reinigung kommen. Immerhin besitzt das Faulverfahren bei sehr großem Gehalt des Abwassers an organischen Substanzen als Vorreinigungseinrichtung eine Berechtigung. Die daraus abfließenden, noch sehr unreinen Abwässer können dann durch einige der vorgenannten Einrichtungen biologisch weiter gereinigt werden, wozu sich Rieselfelderanlagen vielleicht noch am besten eignen.

Da eine genügende Durchlüftung in den Faulkammern nicht durchführbar ist, zumal dieselben auch noch meist gedeckt sind, so siedeln sich in denselben vorwiegend anaërobe oder doch wenigstens fakultativ anaërobe Bakterienarten an, abgesehen von der Deckenflora, die immer genügende Mengen von Sauerstoff erhält.

Alle biologischen Reinigungsverfahren von Abwässern vermögen aber in denselben befindliche pathogene Mikroorganismen nicht mit Sicherheit auszuschalten.

Die von den verschiedenen technischen Großbetrieben stammenden Abwässer werden natürlich bei der Selbstreinigung zur Ansiedlung wesentlich verschiedener Mikroorganismenarten führen, entsprechend den Ernährungsbedingungen, die ihnen fallweise zur Verfügung stehen. So werden die Abwässer der Schlächtereien mit löslichen Eiweißverbindungen überladen sein und in erster Linie ungeheure Mengen von Fäulnisbakterien zur Entwicklung bringen, die dann den kompletten Abbau des Eiweißes bis zu den Endprodukten durchführen. Wesentlich anders liegen die Verhältnisse beim Brauereiabwasser, das neben Eiweißstoffen auch reichlich Kohlehydrate führt. Hier wird Fäulnis und Gärung oder Kohlehydratspaltung um die Wette arbeiten. Ähnlich liegen die Verhältnisse auch bei den Abwässern der Zuckerfabriken. Die moderne Rübenzuckerfabrikation liefert sehr große Mengen von Abwasser, die einen ausgezeichneten Nährboden für zahlreiche Mikro-

organismen abgeben. Überdies enthalten dieselben noch nennenswerte Mengen von Kaliumverbindungen und Phosphaten, die für ein Pilzwachstum von besonders günstigem Einfluß sind. Da in diesen Abwässern aber jedenfalls die Kohlehydrate überwiegen, tritt in ihnen vornehmlich Säurebildung ein. Wir finden in den Abwässern der Rübenzuckerfabriken meist Buttersäurebildner und Milchsäurebakterien, außerdem aber noch ein Heer anderer Mikroben. Meist siedelt sich auch der uns schon bekannte Leptomitus an, außerdem Hefen und Schimmelpilze.

Den theoretischen Erwägungen entsprechend müßten sich zur Reinigung solcher Abwässer auch die Koksfüllkörper oder Tropfkörper eignen. In dieser Hinsicht unternommene Versuche haben auch in der Tat günstige Ergebnisse zur Folge gehabt. Im allgemeinen wird man aber mit den weniger kostspieligen Rieselfeldern auch das Auslaugen finden, zumal hier die Verhältnisse insofern günstig liegen, als Fettstoffe nur in geringer Menge im Abwasser vorkommen und eine Behinderung der Filtration durch sie nicht zu befürchten ist. Die Berieselung wird höchstens dadurch ungünstig beeinflußt, daß gerade die Hauptfabrikationszeit bei der Rübenzuckergewinnung in die kalte Jahreszeit fällt, wodurch die biologischen Vorgänge in den Rieselfeldern sehr verlangsamt werden.

Literatur zur Vorlesung XXXII.

Kolkwitz, R., Die biologische Selbstreinigung der natürlichen Gewässer. Lafar's Handb. d. techn. Mykologie, Bd. III, S. 370.

Ders., Mykologie und Reinigung der städtischen und Zuckerfabriksabwässer. Ebendort, Bd. III, S. 391.

Die Textabbildungen 136—140 sind dem Handbuche der technischen Mykologie von Lafar entnommen.

Sachregister.

Druckfehlerberichtigungen.

Seite	12,	Zeile	6	von	unten:	c statt e.
„	14,	„	7	„	„	einer statt einem.
„	19,	„	6	„	„	die statt des.
„	30,	„	18	„	oben:	wasserarmen statt wasserwarmen.
„	39,	„	24	„	unten:	Ebene statt Ebenen.
„	52,	„	9	„	oben:	Inhalt statt Gehalt.
„	54,	„	14	„	„	den statt dem.
„	59,	„	21	„	unten:	des immer statt des sich immer.
„	64,	„	13	„	„	Arthrosporen statt Athrosporen.
„	70,	„	5	„	oben:	auftretenden statt auftretender.
„	72,	„	12	„	„	Phosphoglobuline statt Phosphorglobuline.
„	72,	„	14	„	„	zerlegt statt verlegt.
„	80,	„	10	„	unten:	Wirkung statt Wirkungen.
„	81,	„	20	„	oben:	reversible statt reserversible.
„	84,	„	6	„	unten:	nicht statt ncht.
„	86,	„	23	„	oben:	Omelianskis statt Omalianskis.
„	92,	„	7	„	unten:	desselben statt derselben.
„	92,	„	6	„	„	dürfte vielleicht statt dürfte ihren Grund vielleicht
„	98,	„	12	„	„	Beijerinck statt Beijernick.
„	103,	„	14	„	oben:	wo der statt der wo.
„	104,	„	20	„	unten:	erreicht wird statt erreicht
„	117,	„	22	„	oben:	konzentrierten statt konzentrierte.
„	120,	„	4	„	„	Geißeln statt Geißela.
„	119,	„	16	„	unten:	kürzer statt kürzcr.
„	188,	„	1	„	„	Stäbchenbakterien statt Stäbchenbakterie.
„	201,	„	14	„	oben:	deren Größe statt der Größe.
„	254,	„	1	„	„	Aderholdi statt Alderholdi.
„	283,	„	15	„	„	Leuconostoc statt Lenconostoc.
„	307,	„	18	„	unten:	ausschalten statt ausschaltet.
„	315,	„	16	„	oben:	homogenisierte statt hemogenisierte.
„	334,	„	11 und 46	von	oben:	Saccharomyces ellipsoideus statt Saccharomyces cerevisiae.
„	358,	„	5	von	unten:	meisten statt meisten
„	365,	„	24	„	oben:	daß statt das.
„	366,	„	18	„	„	niedereren statt niederen.
„	380,	„	12	„	„	sei statt seien.
„	400,	„	3	„	unten:	Dematium statt Dermatium.
„	425,	überall:				Citromyces statt Cytromyces.

Druck von Anton Kämpfe, Jena.



